

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL  
DE LAS AMÉRICAS**

**CARRERA DE LICENCIATURA EN FARMACIA**

**“EVALUACIÓN *IN SILICO* DE LA ACCIÓN  
ANTIMICROBIANA DE ANÁLOGOS DE CLORHEXIDINA  
SOBRE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* Y *PSEUDOMONAS  
AERUGINOSA*”**

**MODALIDAD DE TESIS PARA OPTAR POR EL GRADO DE LICENCIATURA EN  
FARMACIA**

**DANNY MÉNDEZ GONZÁLEZ**

**TUTOR: M. Sc. DENNIS JIMÉNEZ VARGAS**

**ARANJUEZ, SAN JOSÉ**

**MARZO, 2020**

## Contenidos

Agradecimientos.....	8
Pensamiento.....	9
<b>CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>10</b>
Planteamiento del Problema .....	10
Objetivos.....	12
Objetivo general .....	12
Objetivos específicos.....	12
Justificación .....	13
Proyecciones .....	15
Antecedentes.....	16
Antecedentes Internacionales .....	18
Antecedentes Nacionales .....	23
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>25</b>
Historia de las bacterias.....	26
División de bacterias en Eucariotas y Procariotas.....	27
Clasificación bacteriana basada en la morfología .....	28
Clasificación bacteriana por medio de la Tinción de Gram .....	31
Estructura de la célula procariótica .....	33
Pared celular .....	33
Peptidoglicano .....	36
Membrana Externa .....	40
Membrana Citoplasmática.....	43
Composición de la membrana citoplasmática bacteriana.....	50
Cápsula de células pro-cariotas .....	51

Flagelos de células procariotas .....	52
Pilosidades (fimbrias) de células pro-cariotas .....	53
Matriz cito-plasmática de células pro-cariotas .....	53
Cuerpo de inclusión de células pro-cariotas .....	54
Nucleoíde de células procariotas .....	54
Familias bacterias Gram negativas de interés.....	56
Familia <i>Enterobacteriaceae</i> .....	56
<i>Escherichia coli</i> .....	57
Etiopatogenia de la bacteria <i>Escherichia coli</i> .....	59
Tratamiento.....	63
Familia <i>Pseudomonadaceae</i> .....	66
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	67
Etiopatogenia de la bacteria <i>Pseudo-monas aeruginosa</i> .....	71
Tratamiento.....	73
Fisiología bacteriana.....	79
Barreras e Inmunidad.....	81
Relación entre la micro-biota normal y el huésped .....	88
Anti-bioticoterapia.....	89
Resistencia bacteriana.....	98
Infecciones nosocomiales .....	105
Antisepsia .....	110
Clasificación de los antisépticos de acuerdo a su composición química.....	112
Clorhexidina .....	115
Historia .....	115
Usos .....	116

Mecanismo de acción de la molécula de clorhexidina .....	118
Efectos adversos y contra-indicaciones.....	119
Factores que afectan la potencia de los antisépticos y desinfectantes .....	120
Química Medicinal .....	122
Pasos del desarrollo de nuevas drogas.....	123
Análogos moleculares.....	125
Propiedades deseables a la hora de elaboración de análogos .....	126
Farmacóforo.....	131
Optimización del análogo.....	132
Acoplamiento Molecular .....	138
Filtros de “druglikeness” Lipinski, Ghose, Muegge y Veber.....	144
<b>CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO .....</b>	<b>146</b>
Enfoque de la investigación.....	146
Diseño de la investigación.....	146
Objeto de estudio .....	147
Fuentes de Información .....	147
Criterios de inclusión y exclusión .....	148
Categoría de Análisis.....	149
Variable de Análisis.....	150
Instrumentos .....	150
Procedimiento de recolección y análisis de los datos.....	151
Herramientas computacionales.....	153
<b>CAPÍTULO IV: ANALÍISIS DE LOS RESULTADOS .....</b>	<b>157</b>
<b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>207</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>210</b>

Anexo 1.....	217
--------------	-----

## Índice de figuras

Figura 1. Célula Eucariota vs Célula Procariota.....	28
Figura 2. Micrografías electrónicas mostrando la morfología de diferentes bacterias.....	30
Figura 3. Procedimiento tinción de Gram .....	31
Figura 4. Clasificación de las bacterias Gram positivas/ aerobías facultativas .....	32
Figura 5. Clasificación bacterias Gram negativas/ aerobías facultativas .....	32
Figura 6. Clasificación bacterias anaerobías .....	33
Figura 7. Estructura de la pared celular de las bacterias Gram positivas y Gram negativas	35
Figura 8. Estructura del peptidoglicano.....	37
Figura 9. Tipos de entrecruzamiento .....	38
Figura 10. Estructura del peptidoglicano de <i>E. coli</i> .....	39
Figura 11. Los 2 tipos de transporte pasivos y los 3 tipos de transportes activos .....	45
Figura 12. Sistemas de secreción proteínas de bacterias Gram negativas .....	47
Figura 13. Síntesis del peptidoglicano.....	49
Figura 14. Composición lipídica de diversas bacterias Gram negativas .....	50
Figura 15. Nucleoíde de una bacteria <i>Escherichia coli</i> .....	55
Figura 16. Porcentajes de bacterias no sensibles a distintos antibióticos .....	64
Figura 17. Algoritmo de tratamiento de neumonía nosocomial producida por <i>P. aeruginosa</i> en pacientes con o sin ventilación mecánica. ....	75
Figura 18. Micro-biota normal del ser humano.....	87
Figura 19. Relación bencilpenicilina y la cadena peptídica (R-D-Ala-D-Ala) del peptidoglicano de <i>Streptomyces</i> .....	94
Figura 20. Ribosomas procariotas y eucariotas y biosíntesis de proteínas.....	97
Figura 21. Modelo que ilustra la interacción entre los componentes que gobiernan la resistencia a los antibióticos $\beta$ lactámicos en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	100
Figura 22. Principales bacterias que presentan mayor resistencia a los antibióticos .....	104
Figura 23. Cadena de transmisión .....	107
Figura 24. Distintas formulaciones de clorhexidina y sus respectivas indicaciones .....	117

Figura 25. Estructura Molecular Clorhexidina .....	119
Figura 26. Factores que influyen la acción de la clorhexidina .....	121
Figura 27. Pasos para la elaboración de una nueva entidad médica .....	124
Figura 28. Análogo de la pilocarpina .....	127
Figura 29. Ejemplos de compuestos con estructuras rígidas, las cuales están encerradas para facilitar su visualización del grupo funcional rígido. ....	128
Figura 30. Representaciones esquemáticas de los tipos de complejos de inclusión formados por ciclodextrinas y pros-taglandinas .....	131
Figura 31. Similitud entre losartán y otros fármacos anti-hipertensivos .....	132
Figura 32. Variaciones en el grupo alquilo para llenar un pocket hidrofóbico .....	133
Figura 33. Ejemplos de sustitución en el grupo alquilo .....	134
Figura 34. Variaciones en la posición del sustituyente en el anillo aromático .....	135
Figura 35. Bioisosterismo clásico.....	136
Figura 36. Bioisosterismo no clásico.....	137
Figura 37. Técnicas computacionales en función del conocimiento de la estructura del ligando y el receptor .....	139
Figura 38. Múltiples enfoques computacionales de descubrimiento de fármacos que se han aplicado en varias etapas del proceso de descubrimiento y desarrollo de fármacos. ....	140
Figura 39. Esquema de una estrategia SBVS .....	142
Figura 40. Estructura molecular de clorhexidina con digluconato .....	159
Figura 41. Prueba del efecto substantivo de la molécula original de clorhexidina .....	160
Figura 42. Efecto del baño de gluconato de clorhexidina sobre la colonización y la infección con patógenos .....	162
Figura 43. Los 5 momentos para el lavado de manos .....	166
Figura 44. Infograma de la OMS acerca de cómo lavarse las manos.....	168
Figura 45. Paquete de medidas para la prevención de bacteriemias asociadas a CVC .....	171
Figura 46. Visualización molécula original de clorhexidina y PE (izquierda) y PG (derecha) .....	203
Figura 47. Visualización molécula original de clorhexidina y CA .....	203
Figura 48. Visualización del análogo 6 con PE (izquierda) y PG (derecha) .....	204
Figura 49. Visualización del análogo 6 con CA .....	204

Figura 50. Visualización del análogo 36 con PE vista adelante y atrás del acoplamiento.	205
Figura 51. Visualización del análogo 36 con PG (izquierda) y CA (derecha) .....	205
Figura 52. Visualización del análogo 41 con PE (izquierda) y PG (derecha) .....	206
Figura 53. Visualización del análogo 41 con CA .....	206

## Índice de tablas

Tabla 1. Mecanismo de acción y clasificación, antibióticos .....	92
Tabla 2 Definiciones de los filtros.....	144
Tabla 3. Cuadro de codificación: Investigación con Enfoque Cualitativo .....	149
Tabla 4. Cuadro de codificación: Investigación con Enfoque Cuantitativo .....	150
Tabla 5. Softwares que PyRx utiliza de código abierto.....	156
Tabla 6. Precauciones emitidas por los autores Larrañaga y Fernández .....	164
Tabla 7. Lavado de manos quirúrgico .....	169
Tabla 8. Preparación, pero-operatoria del paciente .....	177
Tabla 9. Almacenamiento de los antisépticos .....	179
Tabla 10. Propiedades físico-químicas y cumplimiento de los filtros de druglikeness de la molécula original de clorhexidina .....	181
Tabla 11. Condiciones para la difusión pasiva a través de la piel .....	193
Tabla 12. Propiedades fisicoquímicas del análogo 6 de la molécula clorhexidina .....	195
Tabla 13. Propiedades físico-químicas del análogo 36 de la molécula clorhexidina .....	197
Tabla 14. Propiedades físico-químicas del análogo 41 de la molécula clorhexidina .....	199
Tabla 15. Energías de unión de la molécula Clorhexidina y los componentes de membrana. Valores representados en valores absolutos y unidades de kcal/mol. ....	200
Tabla 16. Estructura y energías de unión de los mejores 3 análogos y los componentes de membrana. Valores representados en valores absolutos y unidades de kcal/mol. ....	201

## **Agradecimientos**

Primeramente, quiero agradecer a Dios por permitirme haber finalizado mis estudios, por haber puesto todas las inquietudes y curiosidades surgidas durante este proceso de aprendizaje, para instruirme, errar y mejorar ante las situaciones surgidas.

A mis padres Danny y Sandra por el regalo de la vida y por ser pilares en mi vida, por ese amor incondicional que nunca faltó, los consejos del día a día, los esfuerzos realizados por ambos para que nunca me faltara nada, la motivación diaria para alcanzar mis metas y las oportunidades que me dieron para ser mejor persona. Les estaré agradecidos toda la vida. Y a mi madre por siempre estar académicamente para mí y ayudarme a salir con éxito ante las adversidades presentadas.

A mi hermano Samuel, por toda la paciencia brindada a lo largo de estos años de estudio, porque siempre estuvo ahí cuando lo necesite.

La universidad por otra parte me dejó una gran familia, llegué a conocer grandes personas a lo largo de este proceso, muchos de ellos amigos con los que compartí risas, alegrías, angustias, sustos. De igual forma agradezco a los profesores que Dios puso en mi camino que me ayudaron a finalizar este proceso y me instruyeron con su sabiduría, de igual manera agradezco a las personas que laboran en la universidad también fueron grandes amigos, desde los guardas, personal administrativo, personal de laboratorio, los de la soda.

Especialmente agradezco a mi tutor Dennis Jiménez, quien es un excelente persona y profesor, por haberme instruido en este campo el cual he aprendido montones bajo su tutela.

## **Pensamiento**

“Si un hombre comienza con certezas, terminará con dudas, pero si se contenta con comenzar con dudas terminará con grades certezas”

Francis Barón (1561-1626)

## CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

### Planteamiento del Problema

En los últimos años se ha dado un considerable incremento en la preocupación acerca de la resistencia a los antibióticos de los diferentes tipos de microorganismos, desde la aparición de los antibióticos en el siglo XIX. Esta problemática es particularmente relevante en el ámbito de la salud y se puede asociar con el uso indiscriminado de los antibióticos y la presión selectiva ambiental realizada por los antisépticos y desinfectantes, lo que genera una respuesta de supervivencia en los microorganismos, que los capacita para evadir con eficacia la acción bactericida de algunos agentes (Cabrera , Gómez, Zúñiga, 2007, p. 149).

Las infecciones asociadas a la atención en salud son uno de los eventos secundarios a los que más comúnmente se enfrentan los pacientes hospitalizados y ocurren hasta en 10 % de esta población. Este tipo de infecciones generan un incremento en la morbilidad, la mortalidad, el tiempo de hospitalización y los costos asociados a la atención en salud (Maya, Ruiz, Pacheco, Valderrama, Virginia & Villegas, 2011, p. 1).

La adecuada aplicación de las normas de antisepsia y, entre ellas, el uso de antisépticos eficaces, son mecanismos que tienen como objetivo la prevención de las infecciones asociadas a la atención en salud. Entre los antisépticos más empleados se encuentra la clorhexidina, compuesto que ha ganado mayor uso y aceptación en el ambiente hospitalario, debido a que ha comprobado ser una herramienta útil en la prevención de este tipo de infecciones (Maya *et al.*, 2011, pp. 1-2).

Según Moncayo (2014) cita claramente a la OMS: "Ante el aumento inexorable de las infecciones por microorganismos resistentes, la escasez de nuevos antibióticos en desarrollo y el poco interés de la industria para invertir en I+D en este campo, se requieren

soluciones innovadoras para detener el incremento de las infecciones por microorganismos resistentes”.

Y más adelante concluye: "La crisis de salud global a causa de los microorganismos resistentes nos concierne a todos, ya que es un problema de si habrá o no antibióticos efectivos en el futuro para tratar muchas infecciones que amenazan la vida" (pp. 1-2). Debido al gran aumento de resistencia y que este es un fenómeno natural de la evolución y la genética de las mismas bacterias hacia los diferentes tipos de antibióticos usados en la actualidad.

También sabiendo que juega un papel fundamental el estado inmunológico, fisiológico y genético del huésped se hace muy difícil el manejo de las infecciones nosocomiales donde los gérmenes oportunistas se manifiestan, en estos casos es complejo controlar por parte de los profesionales de salud de los diferentes ambientes laborales en los centros de salud. Considerando la importancia progresiva de aspectos ambientales, los avances y actualizaciones en el ámbito de uso correcto de antisépticos y desinfectantes, se hace necesario la creación de nuevos análogos que optimicen la actividad antimicrobiana de la molécula original de clorhexidina.

Lo que nos lleva a la siguiente pregunta de investigación ¿Existe la posibilidad de crear análogos de Clorhexidina que sean más selectivos hacia componentes de membrana de microorganismos como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*?

## Objetivos

### Objetivo general

Evaluar mediante métodos *in silico* diferentes análogos de Clorhexidina para potenciar la actividad antimicrobiana sobre cepas de microorganismos de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

### Objetivos específicos

Analizar la acción antimicrobiana de la molécula de Clorhexidina sobre diferentes microorganismos a nivel intrahospitalario.

Explicar el uso de los antisépticos especialmente de la Clorhexidina en pacientes e instrumentos médicos para la prevención de infecciones en el ámbito hospitalario.

Crear diferentes análogos de clorhexidina para la acción antimicrobiana contra las cepas de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

## Justificación

Como menciona la Organización Mundial de la Salud [OMS], (2004) un antiséptico se define como un tipo de desinfectante que cuando se aplica sobre superficies del cuerpo o en tejidos expuestos, destruye o inhibe el crecimiento de microorganismos en tejidos vivos sin causar efectos lesivos, no necesariamente matan todos los organismos, pero los reducen a un nivel que no dañan la salud ni la calidad de los bienes perecederos. Estos también se aplican sobre objetos y materiales inanimados, como instrumentos y superficies, para tratar y prevenir la infección (Formulario Modelo de la OMS, 2004, p. 270).

A partir de 1839 y 1877 Justin Von Liebig, Joseph Lister y Louis, Pasteur, realizan investigaciones y avances en el uso de antisépticos y desinfectantes con el fin de reducir el número de muertes por infección. Desde ese entonces, los antisépticos y desinfectantes se han desarrollado en gran medida y hoy existen diversos métodos físicos y químicos para eliminar los microorganismos de los objetos inanimados y de seres vivos, determinando de esa manera que la aplicación de los antisépticos conciba un enorme progreso en el control de las infecciones (Castro, 2015, p. 13).

El adecuado conocimiento de definiciones y normas de uso de antisépticos y desinfectantes, permite al profesional sanitario contar con una herramienta esencial para evitar la diseminación de agentes infecciosos, a la vez que proporciona las bases científicas para su utilización. El incremento de pacientes con alta susceptibilidad a las infecciones, la aparición de microorganismos resistentes a los antimicrobianos, el aumento y la complejidad en las intervenciones realizadas de multitud de procedimientos invasivos, coinciden muy difícil su eliminación y reducción a cero es prácticamente inalcanzable (Diomedi *et al.*, 2017, p. 156).

Cada paciente está expuesto a una gran y particular variedad de agentes microbianos durante su hospitalización. El contacto entre el paciente y tales agentes, en sí, no produce necesariamente una enfermedad clínica, puesto que hay otros factores que influyen en la naturaleza y frecuencia de las infecciones nosocomiales, pero puede llevar a la colonización y permitir la diseminación de estos patógenos con relevancia epidemiológica en los centros de salud. La infección por alguno de estos microorganismos

puede ser transmitida por un objeto inanimado o por sustancias recién contaminadas provenientes de otro foco humano de infección (infección cruzada) (Diomedi *et al.*, 2017, p. 156).

Dentro de los factores de riesgo más comunes de infecciones nosocomiales mencionan García *et al.*, (2008) *Escherichia coli* es una de las principales causas de infección, además es el agente etiológico más frecuente en la infección del tracto urinario y una de las causas principales de meningitis neonatal también puede ocasionar una amplia variedad de infecciones intestinales y extra-intestinales (p. 157). Por otra parte, según Hernández *et al.*, (2018) *Pseudomonas aeruginosa* es en la actualidad uno de los microorganismos de mayor impacto en las infecciones hospitalarias. Su frecuencia oscila según los países, España (10%) y EE.UU. (25%), estas variaciones están asociadas al tipo de hospital, área geográfica, tipo de servicio, tipo de pacientes y patrón de uso de antibióticos cambiante según la epidemiología de cada hospital (pp. 123-124).

De acuerdo con lo planteado anteriormente se evidencia la necesidad de nuevas moléculas con actividad antimicrobiana, de amplio espectro para lograr una diseminación rápida de microorganismos resistentes. Es aquí donde se hace indispensable por los diferentes especialistas de salud, el estudio y conocimiento de la importancia de la clorhexidina como antiséptico utilizado para la prevención de complicaciones en pacientes que se encuentren hospitalizados y para lograr mejorar su actividad, se pretende producir diferentes análogos basándose en la molécula original de clorhexidina para contribuir en la prevención de enfermedades a nivel mundial.

Actualmente, mediante una rama de la química medicinal con una técnica computacional llamada acoplamiento molecular es posible obtener predicciones de las estructuras de los complejos blanco molecular - ligando y obtener funciones de energía a partir de las estructuras tridimensionales de cada una de las moléculas que interactúan entre sí, gracias a los grandes avances tecnológicos existen bibliotecas de estructuras de compuestos químicos y biológicos que se usan para poder llevar a cabo esta tarea esta, este el principio detrás de la creación de nuevos análogos que sean más potentes, o eficaces hacia el blanco molecular.

## Proyecciones

Evidenciar la actividad antimicrobiana de los análogos de clorhexidina elaborados a partir de programas computacionales sobre cepas de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Se pretende producir análogos *in silico* de clorhexidina que sean más eficaces sobre microorganismos, más que la molécula original usada para la desinfección intrahospitalaria, esto acarrearía nuevas alternativas para la desinfección.

Generar a partir de la producción de análogos *in silico* nuevas posibles utilidades para la molécula en sus diferentes ámbitos de uso.

Causar conciencia sobre los protocolos actuales utilizados para la desinfección a nivel intrahospitalario.

Lograr que los análogos de clorhexidina presenten una mejor energía de unión con los componentes de membrana bacteriana, que la energía de unión que presenta la molécula original de clorhexidina.

Desarrollar más experiencia con el uso de programas computacionales que es una herramienta de química medicinal que viene con un auge fuerte en los últimos años.

## Antecedentes

### Históricos

#### Clorhexidina

Según Weinstein, Milstone, Passaretti & Perl (2008), señalan que la clorhexidina es una solución antiséptica tópica que se ha utilizado en todo el mundo desde 1954. Su uso en niños y adultos ha proporcionado un excelente historial de seguridad y eficacia para aplicaciones tan diversas como el lavado de manos, la preparación preoperatoria de la piel, el tratamiento de la gingivitis y en el cuerpo, lavados para prevenir la sepsis neonatal. El gluconato de clorhexidina es una biguanida catiónica soluble en agua que se une a la membrana celular bacteriana cargada negativamente, alterando el equilibrio osmótico de la célula. La clorhexidina está disponible comercialmente en una variedad de concentraciones (0.5% –4%) y formulaciones (con y sin alcohol isopropílico o etanol) (p. 3).

Según Diomedi *et al.*, (2017), la clorhexidina pertenece al grupo químico de las biguanidas, correspondiendo a una molécula catiónica desarrollada en Inglaterra en 1954 accidentalmente, cuando se buscaba un agente antimalárico; los estudios *in vitro* revelaron una alta actividad antibacteriana y una posterior evaluación reportó su baja toxicidad en mamíferos, buena afinidad con la piel, membranas y mucosas. Todas estas propiedades llevaron al posterior desarrollo y aplicación de clorhexidina como un recomendado antiséptico para piel y mucosas, en heridas leves y para uso odontológico (p. 5).

#### Infecciones Nosocomiales

La historia de esas infecciones desde sus orígenes, las grandes figuras de la medicina relacionadas con ellas y sus aportes, hasta los esfuerzos que en la actualidad se llevan a cabo en la prevención y el control de ese azote de los hospitales, Nosocomial proviene del griego *nosokomein* que significa nosocomio, o lo que es lo mismo hospital, y que a su vez deriva de las palabras griegas *nosos*, enfermedad, y *komein*, cuidar, o sea, “donde se cuidan enfermos”. Por lo tanto, infección nosocomial es una infección asociada con un hospital o con una institución de salud (Nodarse, 2002, pp. 1, 3).

Mismos autores mencionan en su artículo fragmentos de la historia acerca del origen de las infecciones nosocomiales. Sir John Pringle (1740-1780), quien fue el primero que defendió la teoría del contagio animado como responsable de las infecciones nosocomiales y el precursor de la noción de antiséptico. James Simpson, fallecido en 1870, realizó el primer estudio ecológico sobre las infecciones intrahospitalarias (IIH) , donde relacionó cifras de mortalidad por gangrena e infección, tras amputación, con el tamaño del hospital y su masificación, en 1861 el eminente médico húngaro Ignacio Felipe Semmelweis publicó sus trascendentales hallazgos sobre el origen nosocomial de la fiebre puerperal, los cuales demostraron que las mujeres cuyo parto era atendido por médicos en un centro de salud, resultaban infectadas 4 veces más a menudo que las que eran atendidas en su casa por parteras (Nodarse, 2002, pp. 3, 6).

Por otro lado, los autores Rodríguez, Fernández, Ochoa y Romero (2017), señalan desde tiempos remotos, cuando el hombre reconoció y constató que ciertos problemas de salud podían ser resueltos con tan solo el cuidado de sus manos, surgió la era de la cirugía. El instante en el que se rompía la barrera más importante de defensa del organismo: la piel, para restaurar cualquier trastorno susceptible de ser reparado apenas con habilidades manuales. Acompañando a este gran suceso aparecieron las complicaciones infecciosas posoperatoria. En el siglo XIX, el reconocimiento de los conceptos de asepsia (Semmelweis) y antisepsia (Lister) proporcionó las primeras oportunidades para evitar las infecciones que, hasta ese momento, se habían producido casi en todos los actos quirúrgicos (pp. 1, 10).

Según Leralta (2017), en su trabajo final de grado denominado " Infecciones nosocomiales, importancia de *Pseudomonas aeruginosa*." Las infecciones nosocomiales (IN) son las infecciones que adquieren los pacientes ingresados en un hospital por un motivo distinto al ingreso, la prevalencia de pacientes afectados por las infecciones nosocomiales en España representa alrededor de un 8%. La mortalidad de estos pacientes alcanza un 20% y el gran impacto económico oscila en 1.000 millones de euros al año. El problema de las infecciones nosocomiales va más allá de nuestro país, tanto es así que en Estados Unidos la magnitud del problema es similar a la de España.

Los patógenos capaces de desencadenar las infecciones nosocomiales son numerosos, pero destacan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus epidermidis* entre otros, encontrándose ampliamente distribuidos en el entorno sanitario. El tercer patógeno nosocomial más prevalente en España en 2016 fue *Pseudomonas aeruginosa*, patógeno de gran interés debido a la problemática de su infección, los sistemas de resistencia antibiótica (biofilm, bombas de eflujo, enzimas) y la complejidad del tratamiento (Leralta, 2017, p. 16).

Más adelante Leralta (2017), nos expone porcentajes de infecciones nosocomiales correspondientes a cada patógeno durante el periodo 2008 a 2016. De los seis microorganismos mencionados, en el 2008 *P. aeruginosa* (14,07%) fue el mayoritario, seguido de *E. coli* (11,14%) y luego *S. aureus* (6,65%). A partir del 2012 *E. coli* (16,34%) es el principal responsable, seguido de *S. aureus* (10,35%) y *P. aeruginosa* ocupa al tercer lugar (10,5%). En cuanto a *E. faecalis*, *K. pneumonie* y *S. epidermidis* representan menores porcentajes de infecciones nosocomiales, variando ligeramente cada año.

### **Antecedentes Internacionales**

La revista de American Journal of Infection publico el estudio "Lasting hand self-disinfection: A backup for hospital hand hygiene" a cargo de los autores Herruzo, Yela, Vizcaino en el año 2015, donde su objetivo fue evaluar un efecto residual de 30 minutos por diferentes productos antisépticos en la micro-biota endógena y adquirida. Esto mediante un análisis de productos los cuales fueron 2% y 5% de clorhexidina, 1% y 10% de yodo povidona, 60% °n-propanol, 0.2% de mecetronio + isopropanol y 0.6% de clorhexidina + isopropanol + 0.1% de cloruro de benzalconio. Los microorganismos identificados fueron 3 cepas ATCC (*Escherichia coli* K 12; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC No. 15.442; *Staphylococcus aureus* ATCC No. 6538) y 9 cepas multi-resistente aisladas de pacientes de la unidad de cuidados intensivos (utilizadas como micro-biota adquirida).

Los mismos autores más adelante sus exponen resultados, y los mejores productos *in vivo* e *in vitro* con un efecto residual después de 30 minutos en las manos fueron 2% -5% de clorhexidina y 0,6% de clorhexidina + isopropanol + 0,1% de cloruro de

benzalconio. Esta reducción fue significativamente diferente de los otros 4 antisépticos. Este efecto residual se puede considerar un estado de la mano auto desinfectante en la práctica diaria, se concluye con las ideas de que los antisépticos de mano utilizados en hospitales deben pasar pruebas de eficacia residual (después de 30 minutos en micro-biota adquirida) que muestran una reducción in vivo e in vitro. Un buen producto puede ser la mezcla de clorhexidina + alcohol + cloruro de benzalconio (Herruzo, Yela & Vizcaino, 2015, pp. 3, 6).

Los autores Donskey & Deshpande de la Revista American Journal of Infection Control público en el año 2016 un artículo " Effect of chlorhexidine bathing in preventing infections and reducing skin burden and environmental contamination: A review of the literature" donde se estudió si el de baño de clorhexidina es efectivo para reducir los niveles de patógenos en la piel, para evaluar el potencial de descontaminación de la piel para reducir la transmisión, los autores analizaron diversos estudios con relación al tema. El primer estudio analiza si el baño de clorhexidina en todo el cuerpo de una unidad de cuidados intensivos (UCI) es efectiva, los pacientes fueron bañados diariamente con paños de clorhexidina al 2% durante el período de intervención y se realizaron baños de agua y jabón estándar o paños de limpieza sin clorhexidina durante los períodos de control (p.1).

*Enterococcus* resistente a la vancomicina (VRE) fue elegido para el estudio, ya que a menudo está presente en la piel de pacientes colonizados y es una causa común de infecciones del torrente sanguíneo asociadas a la vía central. Los resultados obtenidos por los autores Donskey y Deshpande de la revista mencionada anteriormente, muestran una reducción en la detección de VRE en la piel. Para la piel inguinal, hubo una reducción de 2.5 log en las concentraciones de VRE en el grupo de baño de clorhexidina que persistió durante al menos 6-8 horas. La reducción de VRE en la piel se asoció con una contaminación de VRE significativamente reducida en el medio ambiente y en las manos del personal. Además, hubo una reducción significativa en la adquisición de VRE en la UCI, Los hallazgos brindan un fuerte apoyo al concepto de control de fuentes como una estrategia para reducir la diseminación de patógenos asociados a la atención médica (Donskey & Deshpande, 2016, pp. 2, 4).

Otro de los artículos analizados por Donskey & Deshpande (2016), señala reducciones significativas en bacterias Gram positivas y Gram negativas y *Cándida* spp en

la piel. Además, en 12 de los 14 estudios (86%), el baño de clorhexidina se asoció con una reducción significativa en la colonización. De igual manera exponen resultados de un ensayo cruzado multi-céntrico, aleatorizado por conglomerados, en niños críticos en 10 UCI. El baño se realizó con paños impregnados con clorhexidina al 2%, el baño de clorhexidina resultó en una reducción estadísticamente significativa de la bacteriemia. Los autores concluyen mencionando que, durante la última década, se ha acumulado una creciente cantidad de evidencia que sugiere que el baño con clorhexidina puede ser beneficioso como estrategia para prevenir la colonización y la infección con agentes patógenos asociados a la atención médica (Donskey & Deshpande, 2016, pp. 2, 4).

Según la publicación de Lowe *et al.*, (2016). En la Revista *American Journal of Infection Control* titulada "Reduction in hospital associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus* with daily chlorhexidine gluconate bathing for medical inpatients" consistió en determinar si el baño diario con gluconato de clorhexidina (CHG) se usa cada vez más en unidades de cuidados intensivos para prevenir infecciones asociadas al hospital, el estudio fue realizado del 1 de mayo de 2014 al 10 de agosto de 2015.

Se realizó un estudio cruzado prospectivo en 4 unidades de hospitalización médica, las unidades de intervención utilizaron gluconato de clorhexidina durante un período de 7 meses, incluida una fase de lavado de 1 mes, mientras que las unidades de control utilizaron jabón no medicinal y baños de agua. Las tasas de colonización o infección por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) y la colonización o infección por *Enterococcus* resistentes a la vancomicina (VRE) asociadas al hospital fueron el punto final primario (Lowe et al., 2016, pp. 1, 8).

Los autores Lowe *et al.*, (2016). Obtuvieron entre sus resultados que el cumplimiento del baño diario con CHG fue del 58%. El MRSA y el VRE asociados con el hospital disminuyeron en un 55% (5.1 frente a 11.4 casos por 10,000 días de internación,  $P = 0.04$ ) y 36% (23.2 frente a 36.0 casos por 10,000 días de internación,  $P = 0.03$ ), respectivamente, llegando a la conclusión de este estudio prospectivo y pragmático para evaluar el baño diario de CHG en unidades médicas para pacientes hospitalizados, fue eficaz para reducir el MRSA y el VRE asociados con el hospital (Lowe *et al.*, 2016, pp.1, 8).

Por otro lado, la Facultad de Odontología de la Universidad de la República Montevideo, Uruguay, publicó un estudio en el año 2016 a cargo de Romero, Papone y Jiménez titulado "Gluconato de clorhexidina: seguridad y eficacia como antiséptico en cirugía buco maxilofacial" donde mencionan un ensayo clínico controlado en el que se evaluó la eficacia y la seguridad de dos soluciones de gluconato de clorhexidina aplicadas como antiséptico de piel y mucosas. El ensayo se realizó en una población de estudiantes que concurren a la Clínica de Cirugía Buco-maxilofacial, y concluyeron que, la aplicación de gluconato de clorhexidina al 2% tendría un efecto inhibitorio sobre el desarrollo bacteriano mayor que el gluconato de clorhexidina al 0,12%, y por lo tanto mayor eficacia y seguridad como agente antiséptico.

En la Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social los autores Arias, Rosado, Vargas y Gragales (2016), publicaron el estudio "Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales en el Instituto Mexicano del Seguro Social" donde su objetivo es la prevención y el control de las infecciones nosocomiales, se estudiaron todos los resultados positivos de los cultivos de las infecciones nosocomiales reportadas por el sistema de Vigilancia Epidemiológica Hospitalaria del Instituto Mexicano del Seguro Social durante el año 2013. Se reportaron los microorganismos más frecuentes y los de mayor relevancia epidemiológica. El microorganismo más frecuentemente aislado fue *Escherichia coli* con 8192 (16.9 %), seguido del grupo de *Staphylococcus coagulasa-negativos* con 6771 (14 %) y *Pseudomonas aeruginosa* 5275 (19.9 %). Se concluye el presente estudio identificando a *Escherichia coli*, a *Staphylococcus coagulasa negativos* y a *Pseudomonas aeruginosa* como los principales microorganismos que se deben combatir (pp. 1, 4).

En la Revista Española de Quimioterapia los autores Hernández *et al.*, (2017), publicaron el estudio "Infecciones nosocomiales por *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente incluido carbapenémicos: factores predictivos y pronósticos. Estudio prospectivo 2016-2017", donde su objetivo fue valorar la significación clínica y analizar los valores predictivos y pronósticos de *P. aeruginosa* ya que es uno de los principales microorganismos causante de infecciones nosocomiales. En los últimos años están aumentando las cepas bacterianas resistentes a antimicrobianos y las infecciones producidas

por estas cepas se han asociado a un aumento de la mortalidad. Por medio de un estudio prospectivo de casos y controles no emparejados realizado en 64 pacientes diagnosticados de infección nosocomial por *P. aeruginosa*, 32 de ellos por cepas sensibles y 32 por cepas multi-resistente incluido los carbapenémicos (MDR/XDR-C), ingresados en un hospital de tercer nivel. Se realizó un seguimiento hospitalario hasta el alta o fallecimiento y un control a los 30 días. Se analizaron variables clínico-epidemiológicas y microbiológicas (pp. 1, 3).

Más adelante los Hernández *et al.* (2017), arrojan resultados de la incidencia de cepas MDR/XDR-C fue de 2,3 por 1000 ingresos. Diez de las cuales fueron productoras de metalo- $\beta$ - lactamasa tipo VIM. Los factores predictivos asociados de forma independiente con MDR/XDR-C fueron: la estancia previa en UCI o Reanimación (OR 14,01; IC95% 2,105-93,297), la aparición tras >20 días de estancia (OR 29,826; IC 95% 4,783-185,997) y la leucocitosis (OR 10,0190; IC95% 1,842-56,369). Y concluyeron que los principales factores de riesgo asociados a infecciones por cepas MDR/XDR-C fueron la estancia previa en UCI o Reanimación, la aparición tras >20 días y la leucocitosis. La infección por cepas MDR/XDR-C no se asocia a un aumento de la mortalidad (pp. 3, 7).

La revista Cubana de Medicina Intensiva y Emergencias publicó el estudio "Infecciones nosocomiales y resistencia antimicrobiana" a cargo de los autores Pérez, Fernández, Olivera, Puig, Rodríguez en el año 2019 donde su objetivo fue describir el comportamiento de las infecciones nosocomiales y la resistencia antimicrobiana. Esto mediante un estudio descriptivo, prospectivo, longitudinal en la Terapia Intensiva del Hospital Docente Clínico Quirúrgico "Dr. Joaquín Albarrán", de enero de 2015 a diciembre de 2016. De 231 pacientes sospechosos de infección nosocomial, se seleccionaron 64 en 2015 y 51 en 2016. Se analizaron las variables: perfil al ingreso, estadía, infecciones nosocomiales, antimicrobianos, gérmenes, y estado al egreso. Como resultado los autores exponen que la neumonía asociada a la ventilación fue la más frecuente de las infecciones nosocomiales, causada por la *Klebsiella spp*, seguida por la bacteriemia ocasionada por el *Staphylococcus spp* y las infecciones del tracto urinario por la *Escherichia coli*. Predominaron los pacientes fallecidos con infecciones poli microbianas, y estadía prolongada. En el período analizado más de 40 % de los antibióticos usados mostraron resistencia *in vitro*, excepto la vancomicina y la colistina. El meronem fue el antibiótico más empleado.

### **Antecedentes Nacionales**

En el año 2007 la Caja Costarricense de Seguro Social (C.C.S.S), realizó una actualización del programa de prevención y control de infecciones intrahospitalarias que se titula "Normas y Procedimientos Institucionales para la Prevención y Control de Infecciones Nosocomiales" donde se planteó como objetivo Establecer un Comité de Prevención y Control de Infecciones Intrahospitalarias de carácter interdisciplinario, identificar los problemas de infección nosocomial, los riesgos del personal y proponer las medidas correctivas, reducir el número de infecciones, estancias y costo.

En el año 2007 en la Universidad Costa Rica (UCR) realizó una investigación sobre la " EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL AMBIENTE EN LA SECCIÓN DE EMERGENCIAS QUIRÚRGICAS DE UN HOSPITAL NACIONAL" a cargo de Delgado y Morera, donde se planteó como objetivo evaluar el ambiente microbiológico al que están usualmente expuestos los pacientes del área de Emergencias Quirúrgicas de un hospital nacional, donde se obtuvo un resultado preocupante ya que el 89% de las muestras analizadas resultaron positivas para al menos uno de los parámetros a determinar, lo que refleja condiciones inapropiadas para la estancia de pacientes delicado en la sección.

Por otra parte, los resultados de los autores de la UCR (2007), señalan que para el recuento de coliformes fecales, se manifestaron resultados no satisfactorios en un 10% de las superficies planas, 100% de los lavatorios y en un 16% de las manos del personal, así que el único sitio de los evaluados que no se sobrepasó la norma establecida para el recuento de coliformes totales y fecales fue en las gabachas y material textil utilizado en la sección. Entre el 24 agosto y 5 octubre del año 2006, fechas que comprenden el muestreo realizado, se reportó la identificación de once microorganismos en la sección de Emergencias Quirúrgicas entre estos microorganismos encontramos: *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp*, *Cándida spp* y bacilos Gram negativos como *E. coli*.

El 4 de enero de 2019 se da la oficialización y declaratoria de interés público y nacional del "Plan de acción nacional de lucha contra la resistencia a los antimicrobianos. Costa Rica 2018-2025" en el cual se tiene como objetivo general, el vigilar, contener y

controlar de forma integrada la resistencia a los antimicrobianos abarque salud humana, salud animal y salud vegetal; para asegurar en la medida de lo posible la capacidad de tratar y prevenir enfermedades infecciosas a través del uso responsable y racional de medicamentos eficaces, seguros, accesibles y asequibles, que sean de calidad; proporcionando los lineamientos para la contención y la disminución del impacto de la resistencia a los antimicrobianos.

Asegurando en la medida de lo posible, la continuación del tratamiento y prevención de las enfermedades infecciosas con medicamentos seguros y efectivos, con garantía de calidad, empleados de manera responsable y accesibles a quienes los necesitan, además menciona que la resistencia a los antimicrobianos se ha distribuido a lo largo y ancho del territorio nacional, donde se han reportado casos de microorganismos resistentes en hospitales y en la comunidad. En el país se han realizado aislamientos de bacterias como: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitis*, *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

Según Canase y Canase (2012), en su libro Manual de Microbiología y Parasitología Médica:

“La microbiología, como un todo, con sus ciencias que abarca: bacteriología, micología, parasitología, virología e inmunología, es una ciencia relativamente nueva, la cual se fue afianzando recién a partir de los inicios del siglo XIX. En el pasado, el conocimiento de la esencia de las cosas provenía del saber empírico, el cual estaba muy influenciado por los dogmas religiosos y filosóficos” (p. 12).

La palabra microbiología deriva de las voces griegas *mikros*, pequeño; *bios*, vida y *logos*, estudio; por lo que etimológicamente en ella se estudian los organismos demasiado pequeños para ser percibidos a simple vista. La palabra parasitología proviene de las voces griegas *para*, junto a; *sito*, comida y *logos*, o sea, que trata de los seres vivos que habitan en otro organismo viviente (hospedero) del cual obtienen su alimento (Llop, Valdes-Dapeno, Zuazo (2001, p. 3).

Según menciona Lizarbe (2009), en su artículo Bacterias y Virus ¿cómo nos defendemos?

“Los microorganismos son agentes etiológicos de numerosas enfermedades; al inicio del siglo XX las enfermedades infecciosas eran una de las causas de muerte más frecuentes y, aunque se ha conseguido un control sobre muchas de ellas con la consiguiente disminución de la mortalidad, aún hoy constituyen una de las principales causas de muerte en países subdesarrollados. Así, el número de personas que mueren por enfermedades microbianas tan extendidas como la malaria, la tuberculosis, el cólera, la gripe, la neumonía, la gastroenteritis, es elevado” (p. 115).

Además, los microorganismos todavía constituyen una amenaza grave para enfermos cuyo sistema inmunológico se ha dañado, por las complicaciones resultantes de infecciones oportunistas, o cuando se produce una infección por un patógeno con resistencia múltiple. Todo ello hace que el control de enfermedades infecciosas sea un tema

de actualidad, habiéndose alcanzado éxitos tan importantes para la Medicina” (Lizarbe, 2009, p. 115).

### **Historia de las bacterias**

Canase y Canase (2012), muestran en su libro *Manual de Microbiología y Parasitología Médica* cómo fueron las primeras nociones sobre enfermedades contagiosas y muestran con un conocimiento básico como en el antiguo testamento, se relata que los enfermos de lepra debían vivir fuera de las ciudades para evitar de esta manera contagiar a los demás (p. 12). Ya en el año 1546 Fracastoro de Verona, hablaba del *contagium vivium* como causa de las enfermedades, basándose en sus observaciones sobre la sífilis y otras enfermedades sostenía que las mismas eran contagiosas por el contacto directo interhumano como las partículas transportadas por el aire, causando en el individuo sano, la misma enfermedad que padecía el enfermo que lo contagio (Canese & Canese, 2012, pp. 12-13).

Francesco Redi en 1626 demostró que la formación de gusanos en la carne en putrefacción, según la teoría de la generación espontánea, se impedía al protegerla con una gasa, debido a que con ella se evitaba que las moscas desovaran sobre ella. De igual forma fueron refutadas la producción espontánea de ratones y otras formas similares de vida a partir de la basura. En 1676, Anton Van Leeuwenhoek, comunicaba a la Royal Society de Londres la observación de formas bacterianas, mediante un microscopio de lentes de vidrio, que el mismo construyó, con el que pudo observar bacterias esféricas, en formas de bastones y en espiral, así como también protozoarios y hongos filamentosos y levaduriformes. Posteriormente en 1678 Robert Hooke desarrolló y perfeccionó el microscopio compuesto, mediante el cual corroboró los hallazgos de Van Leeuwenhoek (Canese & Canese, 2012, pp. 12-13).

Pero fue Gustav Henle en 1809-1885, quien señaló por primera vez las pautas para considerar que un germen era la causa de una enfermedad determinada. Su argumento consistió en que, para poder probar la relación existente entre un microorganismo y una entidad nosológica, es necesario que aquel se encuentre siempre presente en ella, poderlo aislar y comprobar posteriormente, inoculándolo a los animales, los efectos del mismo. Los perfeccionamientos técnicos Robert Koch en 1843-1910 y sus colaboradores, tales como los medios de cultivos sólidos, los colorantes de anilina, importantes mejoras del

microscopio. Le permitieron corroborar las ideas de Henle, emitir en 1882 sus famosos postulados (Llop, Valdes-Dapeno y Zuazo, 2001, p. 5).

Según los autores Llop *et al.*, (2001). Los postulados emitidos por Henle en 1882, son los siguientes:

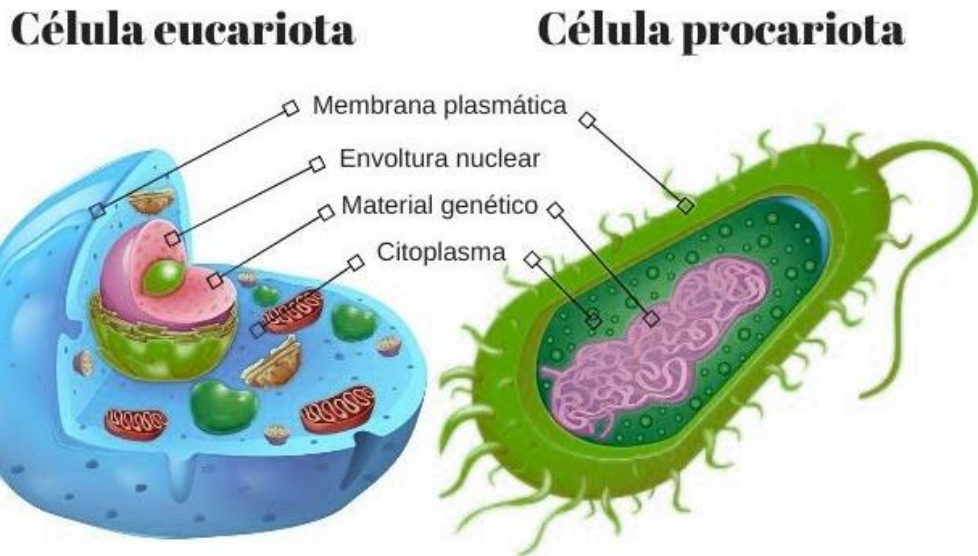
- “1. El microorganismo debe estar presente, en abundancia, en los tejidos, sangre o excretas del animal que sufre la enfermedad.
2. Debe ser aislado y estudiado en cultivo puro.
3. Debe ser capaz de reproducir la misma enfermedad cuando es inoculado a animales sanos.
4. Debe ser encontrado, también en abundancia, en los animales así inoculados experimentalmente

Aunque los postulados de Koch, derivados de las ideas de Henle, no son siempre totalmente exactos y un nuevo concepto de la enfermedad infecciosa existe hoy en la actualidad, ellos hicieron avanzar extraordinariamente la microbiología médica al extremo que, en las dos últimas décadas del siglo XIX, se describieron casi todos los microorganismos bacterianos principales causantes de enfermedades infecciosas” (p. 5).

### **División de bacterias en Eucariotas y Procariotas**

Los autores Llop, Valdes-Dapeno, Zuazo (2001) clasifican primeramente las células vivas como eucarióticas o procarióticas con algunas estructuras similares, ya que ambas poseen membrana celular o membrana citoplasmática y ADN para la codificación de sus informaciones genéticas, las características que difieren hacen a la célula procariótica mucho más simple que la eucariótica, en cualquier nivel estructural, excepto en la pared celular que es mucho más compleja (p. 27).

Figura 1. Célula Eucariota vs Célula Procariota



Fuente: Magalhães, 2010.

Las bacterias (células procarióticas), carecen de sistemas de membranas internas y en el citoplasma se localizan los cuerpos de inclusión, los ribosomas y el nucleoide con el material genético, poseen una membrana plasmática y una pared celular que es química y morfológicamente compleja que contiene péptidoglicanos, estos capacitan a la bacteria para resistir la presión intracelular evitando que se produzca una lisis osmótica, les protege frente a sustancias tóxicas, es el blanco de acción de varios antibióticos y les permite adoptar una forma definida que se transmite de generación en generación (Lizarbe, 2009, p.122).

### Clasificación bacteriana basada en la morfología

Según los autores Prescott, Harley & Klein (2004), en su libro Microbiología quinta edición, la mayoría de las bacterias conocidas presentan forma de coco o de bacilo. Los cocos son células casi esféricas, pueden existir como células individuales, pero se asocian en agrupaciones, los diplococos se forman cuando los cocos se dividen y permanecen juntos en pares (*Neisseria*) cuando las células después de dividirse en un mismo plano no se separan si no que forman largas cadenas de cocos (*Streptococcus*, *Enterococcus* y *Lactococcus*) algunas se dividen en planos aleatorios para generar racimos irregulares (*Staphylococcus*) (p. 79).

Así mismo la otra forma común bacteriana es el bastoncillo, denominado bacilo, hay bacterias que poseen una forma semejante a bacilos largos retorcidos como espirales o hélices, se nombran espirilos si son rígidos y espiroquetas cuando son flexibles. Generalmente las procariotas son más pequeñas que las eucariotas y carecen de los complejos sistemas de transporte vesicular, se ha asumido que deben ser pequeñas por la necesidad de una proporción mayor entre superficie y volumen y así favorecer la difusión intracelular de nutrientes (Prescott, Harley y Klein, 2004, p. 80).

Según los autores Mollinedo & González (2014)

“Existen varias maneras de clasificar a las bacterias por ejemplo, según su forma se clasifican en: cocos (esféricos), espirilos (en forma de espiral) y bacilos (bastones), según su óptimo de temperatura en: termófilas, mesófilas y psicrófilas, según el pH en el que se desarrollan: acidófilas, neutrófilas y basófilas, pero es más didáctico clasificar a las bacterias, en Gram positivas - Gram negativas, según su requerimiento de oxígeno para poder permanecer con vida, teniendo la siguiente clasificación” (p. 2611).

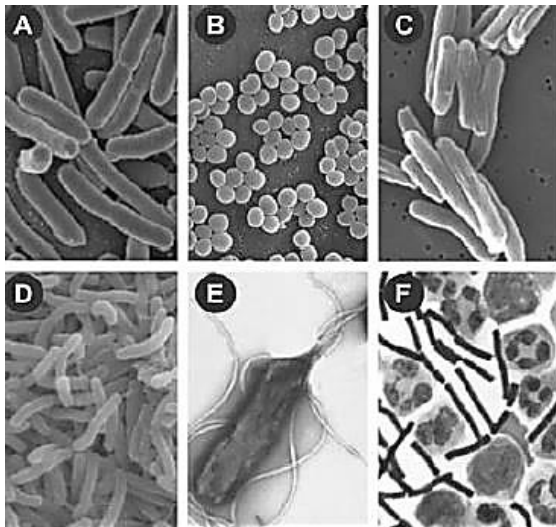
Bacterias aerobias estrictas: En este grupo se encuentran las bacterias del género *Campylobacter*, que son bacilos espirales curvados y móviles, sus especies son: *C. fetus*, *C. jejuni*, *C. coli*, *C. rectus*, *C. mucosalis*. Otra bacteria que está en el orden del *Campylobacter* es el *Helicobacter pylori*, que es una bacteria que afecta al epitelio gástrico humano, produciendo úlceras gastroduodenales. Al vasto grupo de los bacilos y cocos aerobios Gram negativos pertenecen las familias de las *Pseudomonas*, que poseen flagelos polares y generalmente se hallan en el suelo, pero pueden llegar a ser patógenas en animales (*Ps. aeruginosa*) y en plantas (*Ps. syringae*) (Mollinedo & González, 2014, p.2612).

Las *Legionellaceae*; las *Moraxelaceae*; las *Brucellaceae*, afectan principalmente a animales, en esta variedad se encuentran: *Brucella abortus* que infecta generalmente a bovinos, *Brucella suis* al ganado porcino, *Brucella melitensis* a cabras y *Brucella canis* a perros; las *Neisseriaceae*, que son cocos agrupados en parejas, sus especies son: *Neisseria*

*meningitidis* (causante de la meningitis), *Neisseria gonorrhoeae* (que produce la gonorrea); entre otras familias de bacterias Gram negativas aeróbicas. Bacterias anaeróbicas estrictas, esta clasificación pertenecen los géneros: *Fusobacterium* (*F. nucleatum*); *Bacteroides*; (*B. fragilis*); *Prevotella*; *Porphyromonas*; *Veillonellaceae*. (*V. párvula*) (Mollinedo & González, 2014, p. 2612).

Bacterias anaerobias facultativas: las bacterias que pertenecen a esta división son la familia de Enterobacteriaceae. Estas fermentan los carbohidratos en ausencia de oxígeno y forman ácido y gas. Los principales géneros y especies que pertenecen a esta familia son *Escherichia*, con su especie *E. coli* que es capaz de formar el antígeno O y K, generando resistencia a sustancias bactericidas y *Shigellas* están a: *S. dysenteriae* y *S. sonney* que desencadenan la disentería bacilar. *Klebsiella* más destacada es la *K. pneumoniae* que da lugar a varias infecciones como la neumonía (Mollinedo & González, 2014, p. 2612).

Figura 2. Micrografías electrónicas mostrando la morfología de diferentes bacterias.



**Figura 3. Micrografías electrónicas mostrando la morfología de diferentes bacterias. (A)** Cultivo de *Escherichia coli*. **(B)** Cultivo de una cepa de la bacteria *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina. **(C)** Detalles de la bacteria gram-positiva *Mycobacterium tuberculosis*. **(D)** Bacteria *Vibrio cholerae* que infecta el aparato digestivo. **(E)** Bacteria *Helicobacter pylori* mostrando numerosos flagelos sobre la superficie celular. **(F)** Bacteria gram-positiva *Bacillus anthracis* (teñido de púrpura) desarrollándose en el líquido cefalorraquídeo; cada pequeño segmento es una bacteria. Microscopía electrónica de barrido (A-D), (E) microscopía electrónica de transmisión (F) tinción de Gram.

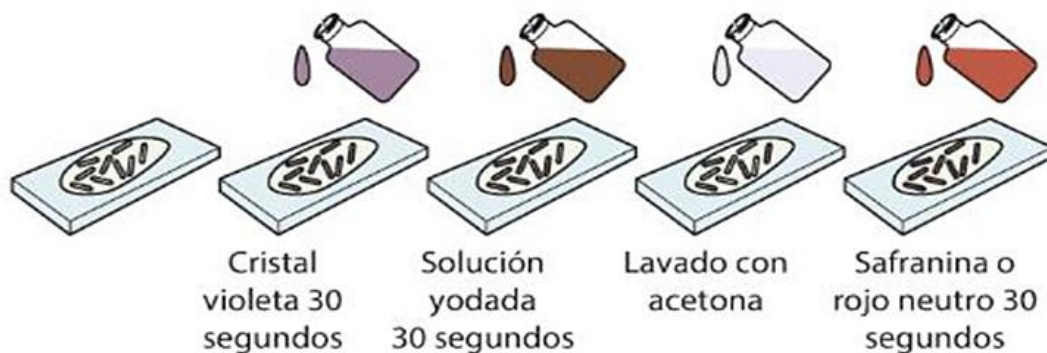
Fuente: (Lizarbe, 2009, p. 8).

### Clasificación bacteriana por medio de la Tinción de Gram

La tinción de Gram, desarrollada por el médico danés, Christian Gram en 1884 es el método de tinción más ampliamente utilizado en bacteriología. El primer paso consiste en que el frotis se tiñe con el colorante básico violeta de genciana, a continuación, se trata con una solución yodada que actúa como mordiente, el yodo aumenta la interacción entre la célula y el colorante, de forma que se tiñe más intenso (Prescott, Harley y Klein, 2004, p.63).

Luego se decolora el frotis lavándolo con etanol o acetona, este paso produce el aspecto diferencial de la tinción de Gram, las bacterias Gram positivas retiene el cristal violeta mientras que las Gram negativas lo pierden y aparecen incoloras. Finalmente, el frotis se tiñe de nuevo (tinción contraste) con un colorante básico de diferente color al cristal violeta, la safranina es el colorante de contraste más común y tiñe las Gram negativas de rosa o rojo, dejando las Gram positivas de color violeta (Prescott, Harley y Klein, 2004, p. 63).

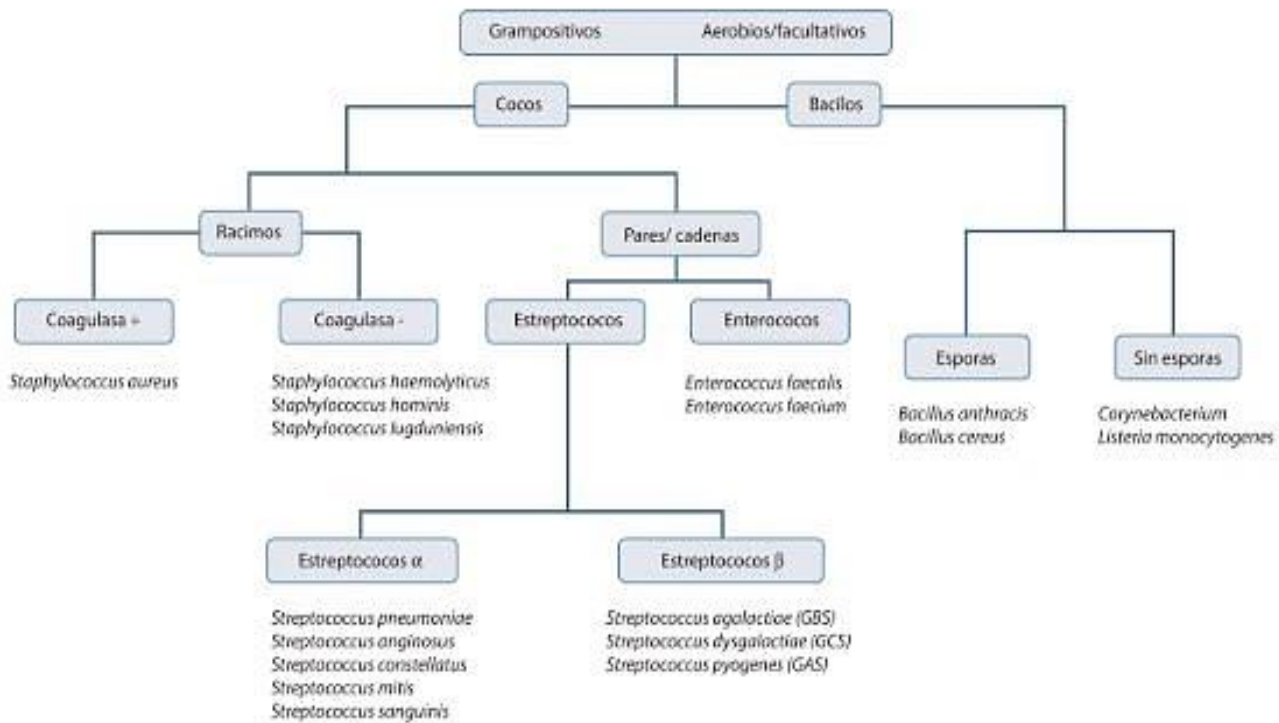
Figura 3. Procedimiento tinción de Gram



Fuente: (Struthers, 2018).

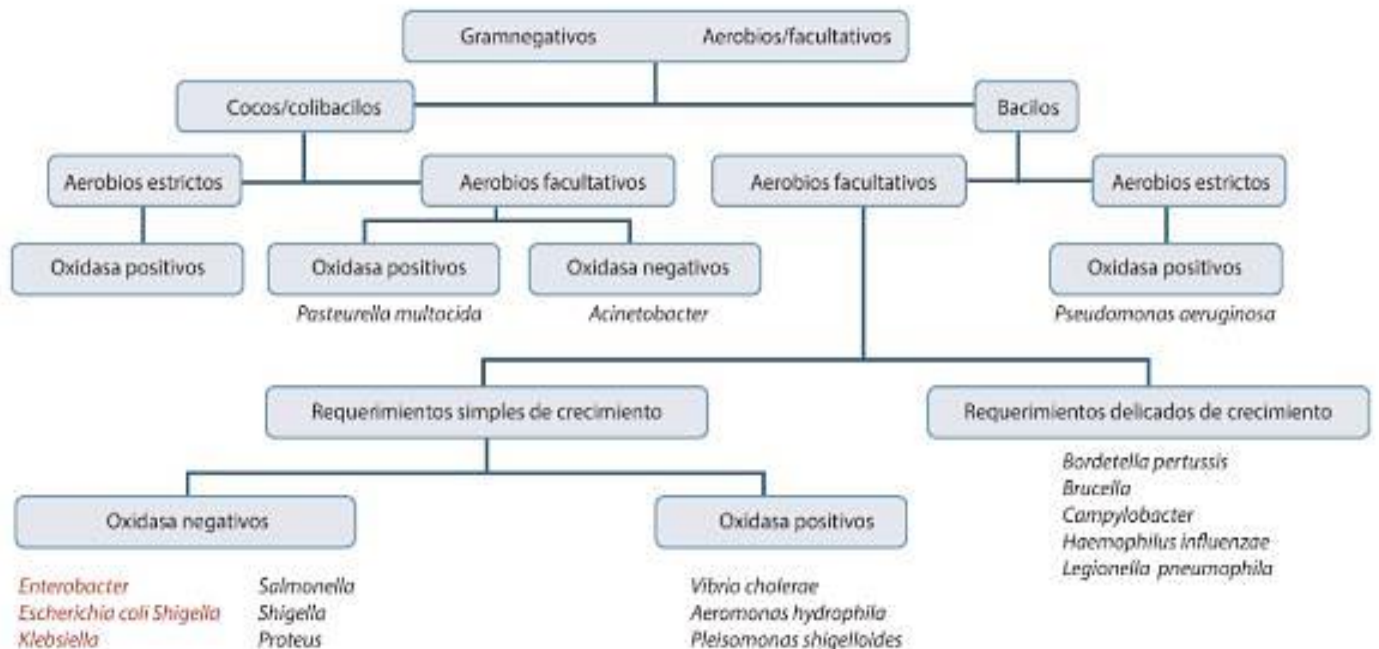
La mayoría de las bacterias se clasifican en Gram-positivas y Gram-negativas, en función de la pared celular y la respuesta a la tinción con el reactivo de Gram (Struthers, 2018, p. 22).

Figura 4. Clasificación de las bacterias Gram positivas/ aeróbicas facultativas



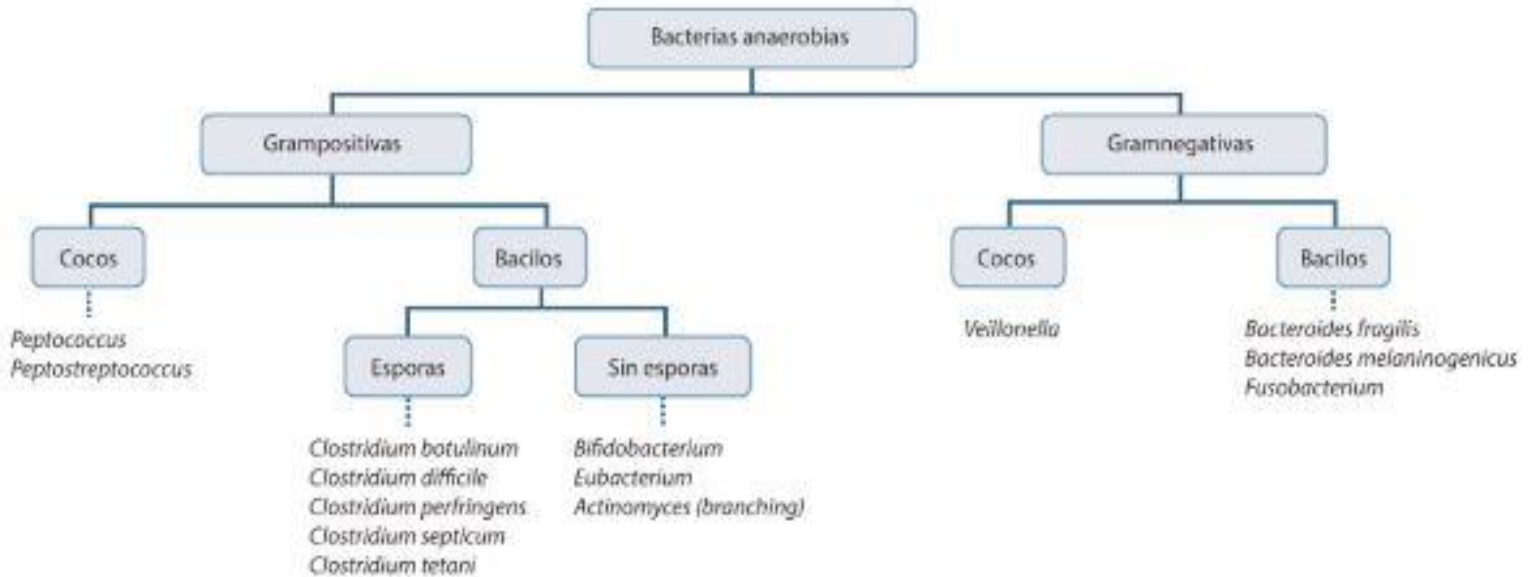
Fuente: (Struthers, 2018, p. 21).

Figura 5. Clasificación bacterias Gram negativas/ aeróbicas facultativas



Fuente: (Struthers (2018), p. 21).

Figura 6. Clasificación bacterias anaeróbicas



Fuente: (Struthers (2018), p. 21).

### Estructura de la célula procariótica

La célula bacteriana (procariótica) está estructurada de la siguiente manera: la membrana celular está rodeada de una pared celular; hacia el interior de la célula nos encontramos un citoplasma con ribosomas y una región nuclear (nucleoíde) y en algunos casos la presencia de gránulos, vesículas o ambos. Como estructuras externas podemos citar los flagelos, las fimbrias y la cápsula. (Llop *et al.*, 2001, p. 27).

### Pared celular

El autor Struthers (2018), en su libro Microbiología Clínica comenta:

“La pared celular bacteriana tiene muchas funciones, la más importante es proteger las estructuras celulares internas de la presión osmótica y otras fuerzas físicas que una bacteria puede encontrar en un entorno cambiante. Esta protección la proporciona una malla de peptidoglicano que rodea la membrana citoplasmática” (p.23).

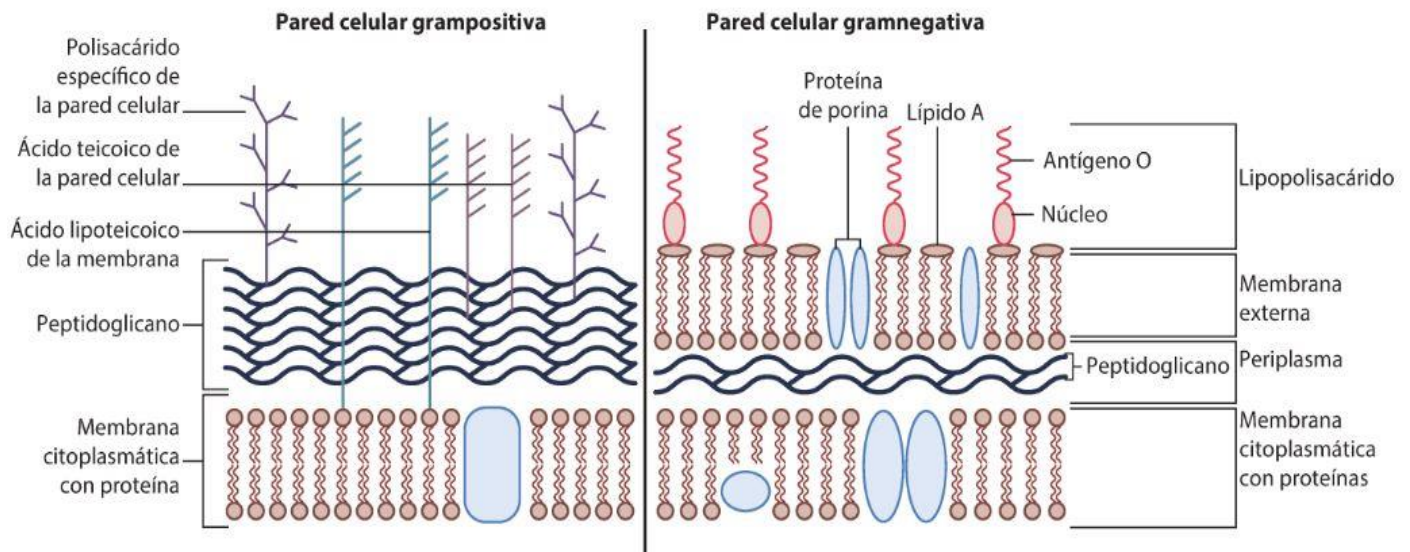
Además, los autores Canase y Canase (2012), exponen que la composición de la pared difiere según se trate de una bacteria Gram positiva o una Gram negativa, el componente común mureína o péptidoglicano. En las bacterias Gram positivas, el ácido teicoico puede alcanzar más del 50% de peso de la pared. Las Gram positivas también tiene ácido lipoteicoico que ancla la pared bacteriana a la membrana plasmática, en las Gram negativas el péptidoglicano constituye una pequeña porción de la pared, en la que se encuentran mayoritariamente proteínas, fosfolípidos y lipopolisacáridos (p. 142).

Las bacterias Gram negativas distinguen tres capas bien definidas, una membrana externa compuesta de lipopolisacáridos, fosfolípidos y proteínas, los lipopolisacáridos poseen polisacárido O (antígeno tipo específico), un antígeno no específico y la fracción lipídica A, la cual es la fracción toxica o endotoxina bacteriana, en la membrana externa también encontramos proteínas llamadas porinas que conforman los poros de la pared. (Canese & Canese, 2012, p. 142).

La capa intermedia está constituida por el péptidoglicano y última capa es la membrana plasmática interna, entre ambas se encuentra el espacio periplásmico. La pared bacteriana permite el paso de moléculas relativamente pequeñas, pero bloquea a las moléculas grandes hacia el espacio periplásmico, algunas enzimas como las beta-lactamasas están contenidas entre las capas de péptidoglicano y la membrana plasmática. Entre las funciones de la pared celular: proteger la bacteria contra agresiones, conferirle morfología constante, impedir el paso de moléculas grandes mayores al tamaño de sus poros, invaginarse durante el proceso de reproducción bacteriana y participar con su endotoxina A (lípidos A) en el proceso patogénico (Canese & Canese, 2012, p. 142).

La pared es dura pero elástica y cuando la bacteria pierde esa elasticidad, casi siempre conlleva a muerte bacteriana a excepción de las formas L bacterianas o esferoplastos que pierden la pared por la acción de las enzimas (lisozima) o de los antibióticos (penicilina, cefalosporinas) pero la recuperan al suspenderse la acción del agente productor del proceso, durante la fase L bacteriana (bacteria sin pared) es insensible a la acción de los antibióticos beta-lactámicos, que inhiben la síntesis de la pared celular (Canese & Canese, 2012, p. 142).

Figura 7. Estructura de la pared celular de las bacterias Gram positivas y Gram negativas



Fuente: (Struthers (2018), p. 23).

Los autores Prescott, Harley y Klein (2004) del libro Microbiología profundizan más en el tema de la pared celular de bacterias de Gram positivas y negativas mencionan que:

“Normalmente la gruesa pared celular de las bacterias Gram positivas está constituida por peptidoglicano, cuyas mureínas a menudo están entrelazadas por puentes peptídicos, sin embargo, también encontramos grandes cantidades de ácidos teicoicos polímeros de glicerol y ribitol unidos por grupos fosfatos. Aminoácidos como D-alanina o azúcares como glucosa están unidos a los grupos de glicerol y ribitol. Los ácidos teicoicos pueden estar unidos al peptidoglicano mediante un enlace covalente con el hidroxilo seis del ácido A/-acetilmurámico o bien a los lípidos de la membrana plasmática, este último caso se denomina como ácidos lipoteicoicos” (p. 93).

Los ácidos teicoicos parece que se extienden hasta a superficie del peptidoglicano y como están cargados negativamente contribuye a dotar a la pared celular de carga negativa. La pared celular de las bacterias Gram negativas es mucho más compleja, la capa de péptidoglicano, próxima a la membrana plasmática no constituye más del 5-10% de todo el

peso de la pared. En *E. coli* es de unos 2nm de grosor y está formada solo por una o dos capas de peptidoglicano (Prescott, Harley y Klein, 2004, p. 95).

Según los autores Mollinedo, González (2014):

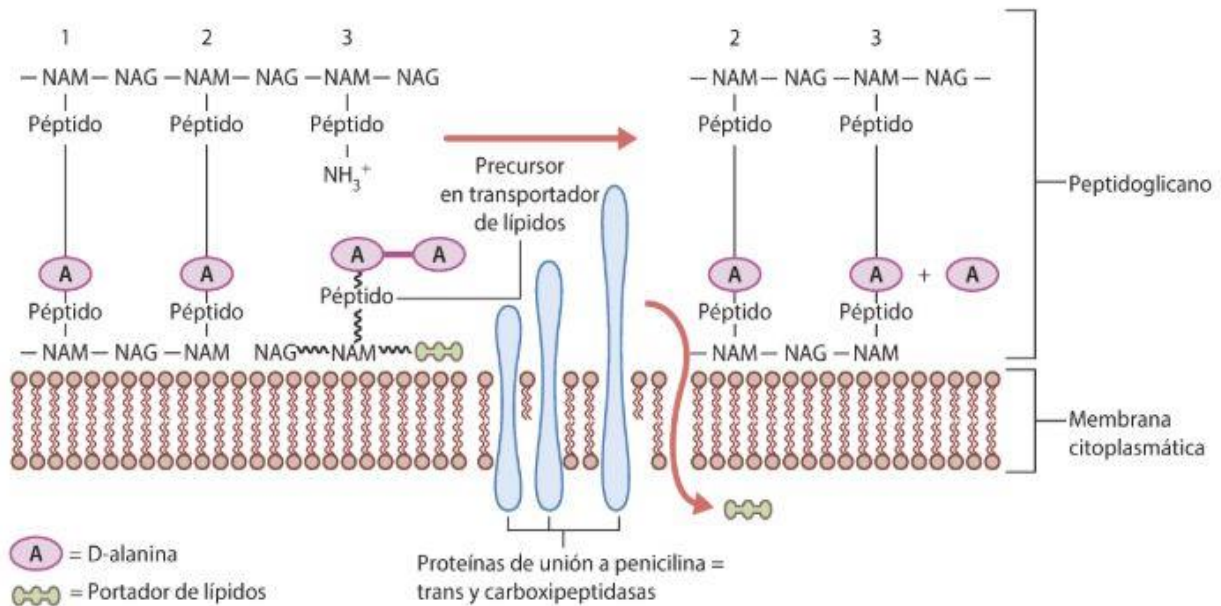
“La diferenciación entre bacterias Gram positivas y Gram negativas está en la estructura de la pared celular, ya que ésta en las bacterias Gram positivas tiene una gruesa capa de peptidoglicano, dos tipos de ácidos teicoicos: el ácido lipoteicoico (ubicado en la cara interna de la pared celular y unido a la membrana plasmática) y el ácido teicoico (que se halla en la superficie, anclado solamente en el peptidoglicano), a diferencia de las bacterias Gram negativas, en las que la pared celular es delgada, y está unida, mediante lipoproteínas, a otra membrana plasmática externa, dicha membrana es soluble en solventes orgánicos y la capa de péptidoglicano es muy delgada y no retiene el complejo de cristal violeta, y por lo tanto no es posible su tinción azul violácea” (p. 2610).

### **Peptidoglicano**

El polímero de peptidoglicano forma enlaces cruzados con cadenas laterales peptídicas cortas que son esenciales para la estabilidad de este péptido y la pared celular, la formación de enlaces cruzados se lleva a cabo mediante trans y carboxipeptidasas, enzimas ancladas en la membrana citoplasmática, estas también se conocen como proteínas de unión a la penicilina (PUP) (Struthers, 2018, p. 23).

El aminoácido serina es el componente clave en el sitio activo de estas enzimas. También es el blanco de los antibióticos B-lactámicos (penicilina, cefalosporina y carbapenémicos) cuya actividad radica en el anillo betalactámico al residuo de serina de la PUP inactiva la enzima evitando la formación de enlaces cruzados, sin la malla protectora de péptidoglicanos, la membrana citoplasmática desprotegida y en contenido celular protruyen a través de defectos en la malla, la célula estalla (Struthers, 2018, pp. 23-24).

Figura 8. Estructura del peptidoglicano



**Figura 1-7.** El peptidoglicano consiste en unidades repetitivas de N-acetilglucosamina (NAG) y ácido N-acetilmurámico (NAM) reticuladas por cadenas laterales de péptidos. Las proteínas de unión a la penicilina (PUP) son responsables de la formación de enlaces cruzados de estas cadenas laterales peptídicas.

Fuente: Struthers, 2018, p. 23

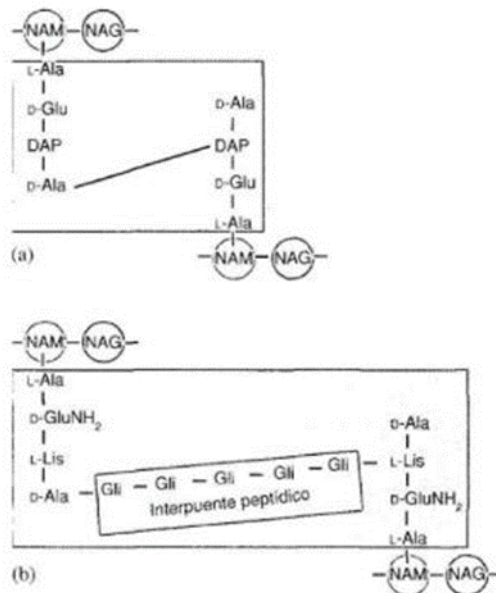
Los autores Prescott, Harley y Klein (2004) en su libro Microbiología quinta edición definen la estructura del peptidoglicano de la siguiente manera:

“El péptidoglicano o mureina es un gran polímero compuesto por muchas subunidades idénticas. El polímero contiene dos derivados de azúcar (N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico) y varios aminoácidos (ácido D-glutámico, D-alanina y ácido meso-diaminopiméico no están presentes en las proteínas. La presencia de D-aminoácidos protege frente a la mayoría de peptidasas. El esqueleto de este polímero está constituido por residuos alternantes de acetilglucosamina y acetilmurámico, una cadena peptídica de cuatro aminoácidos D y L alternantes está conectada a un grupo carboxilo del ácido N-acetilmurámico” (p. 93).

Las cadenas de subunidades de peptidoglicano están entrecruzadas por sus péptidos. A menudo el grupo carboxilo de la D-alanina terminal de una mureina está conectado directamente al grupo amino de ácido diaminopiméico de una mureina de otra cadena paralela y en otras ocasiones se puede emplear un interpuente peptídico, la mayoría de

péptidoglicanos las bacterias Gram negativas carece de este tipo de puente, este entrecruzamiento produce un saco de peptidoglicano de gran tamaño que es una malla densa lo suficientemente fuerte como para mantener su forma e integridad (Prescott, Harley y Klein, 2004, p. 93).

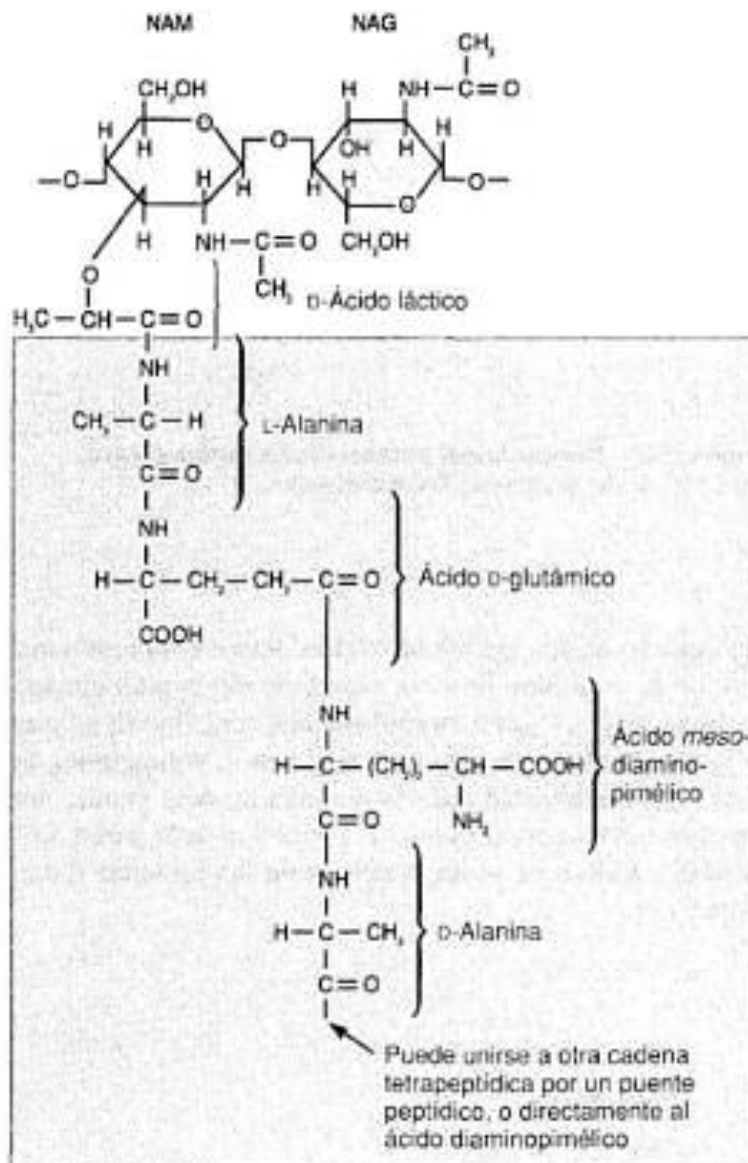
Figura 9. Tipos de entrecruzamiento



**Figura 3.18 Entrecruzamientos en el peptidoglicano.**

(a) Peptidoglicano de *E. coli* con enlace directo, típico de muchas bacterias Gram negativas, (b) Peptidoglicano de *Staphylococcus aureus* (bacteria Gram positiva) mostrando un entrecruzamiento con puente peptídico. NAM es ácido W-acetilmurámico; NAG, N-acetilglucosamina; Gly, glicina. Aunque se representan las cadenas de polisacáridos una enfrente de otra, también puede producirse estos entrecruzamientos entre cadenas paralelas (véase la Figura 3.19).

Fuente: Prescott, Harley y Klein, 2004, p. 93

Figura 10. Estructura del peptidoglicano de *E. coli*

**Figura 3.16 Composición de la subunidad del peptidoglicano.** Subunidad del peptidoglicano de *Escherichia coli*, y de la mayoría del resto de bacterias Gram negativas y de muchas Gram positivas. NAG es N'-acetilglucosamina; NAM es N'-acetilmurámico (NAG con ácido láctico unido por un enlace éter). La cadena lateral tetrapeptídica está compuesta por aminoácidos D- y L- alternantes; el ácido *meso*-diaminopimélico está unido a través de su carbono L. NAM y la cadena tetrapeptídica a la que está unido se representan con diferentes gamas de color para mayor claridad.

## Membrana Externa

Los autores Prescott, Harley y Klein (2004) en su libro Microbiología quinta edición mencionan:

“La membrana externa está situada por fuera de la capa fina de peptidoglicano. La proteína de membrana más abundante es la lipoproteína de Braun, una pequeña lipoproteína unida covalentemente al peptidoglicano subyacente, e incluida en la membrana externa por su extremo graso hidrofóbico. La membrana externa y el péptidoglicano están firmemente unidos por esta lipoproteína que pueden aislarse como una unidad. Otra estructura que da resistencia a la pared celular y mantiene la membrana externa en su posición es el lugar de adhesión” (p. 95).

Las membranas externa y plasmática parece que están en contacto directo en muchos lugares en la pared Gram negativa. En células plasmolizadas de *E. coli*, se han observado áreas de contacto de 20 a 100 nm entre las dos membranas, los lugares de adhesión pueden ser regiones de contacto directo o posiblemente de verdaderas fusiones de membrana. Se ha propuesto que las sustancias pueden desplazarse al interior de la célula a través de estos lugares de adhesión, en lugar de viajar a través del periplasma (Prescott, Harley y Klein, 2004, p. 95).

Posiblemente los constituyentes más inusuales y característicos de la membrana externa de las bacterias Gram negativas, sean sus lipopolisacáridos (LPS), estas moléculas grandes y complejas contiene lípidos e hidratos de carbono y están formados por tres partes: 1) lípido A, 2) polisacárido central o core 3) cadena lateral O o antígeno O. Cabe destacar que no existe una estructura de LPS universal, el LPS que más se ha estudiado es el de *Salmonella typhimurium*” (Prescott, Harley y Klein, 2004, p. 95).

La región del lípido A contiene dos derivados del azúcar glucosamina, cada uno de ellos unido a tres ácidos grasos y grupos fosfato o pirofosfato. El lípido A, se encuentra inserto en la membrana externa, mientras que el resto de la molécula de LPS sobresale de la superficie. Un polisacárido central denominado core está unido al lípido A, en el caso de *salmonella* está formado por 10 azúcares. El antígeno O es una cadena polisacáridica que se

extiende hacia fuera del núcleo, variando su composición de azúcares según la cepa bacteriana (Prescott, Harley y Klein, 2004, p. 97).

Aunque los antígenos O son fácilmente reconocibles por los anticuerpos del huésped, las bacterias Gram negativas pueden incapacitar las defensas del huésped cambiando rápidamente la naturaleza de sus antígenos O para evitar su detección. La interacción de los anticuerpos con el LPS, antes de alcanzar la membrana externa propiamente dicha, puede también proteger a la pared celular frente a un ataque directo, anticuerpo-antígeno (Prescott, Harley y Klein, 2004, p. 95).

El LPS además de la mencionada capacidad de defensa frente al huésped, contribuye a la carga negativa de la superficie bacteriana, ya que el polisacárido central contiene normalmente azúcares cargados y fosfatos, el LPS facilita la estabilización de la estructura de la membrana. Además, el lípido A es a menudo tóxico, como consecuencia LPS puede actuar como endotoxina y causar alguno de los síntomas que desarrollan las infecciones por bacterias Gram negativas (Prescott, Harley y Klein, 2004, p. 97).

Según los autores Jawetz, Melnick & Adelberg (2016) en el libro Microbiología Médica mencionan:

“La permeabilidad de la membrana externa varía ampliamente de un género bacteriano a otro; por ejemplo, *Pseudomonas aeruginosa* es extremadamente resistente a los fármacos antibacterianos y tiene una membrana externa que es 100 veces menos permeable que la *Escherichia coli*. Las porinas, ejemplificadas por OmpC, D y F y por PhoE de *E. coli* y de *Salmonella typhimurium* son proteínas trimericas que penetran ambas capas de la membrana externa. Las porinas de diferentes géneros bacterianos tienen diferentes límites de exclusión, que van desde pesos moleculares de casi 600 *E. coli* y *S. typhimurium* a más de 3000 en *P. aeruginosa*” (p. 27).

Las porinas actúan como canales que permiten que las moléculas hidratadas pasen a través de la membrana, desde el espacio periplásmico, las moléculas pueden ser transportadas a través del citoplasma hacia la célula, cabe señalar que las porinas permiten que los antibióticos, como los beta-lactámicos, lleguen a su sitio de acción. La

bencilpenicilina no es eficaz en contra de la mayoría de Gram negativos porque no es lo suficientemente polar como para pasar a través de un canal de porina. La ampicilina polar pasa a través del canal de porina hidratada hacia el espacio periplásmico, donde puede actuar sobre las proteínas de unión a penicilina (PUP) (Struthers, 2018, p. 24).

Según la autora Lizarbe (2009) menciona:

“Las denominadas proteínas de unión a penicilina (PUP) catalizan la polimerización de las cadenas de glicano (reacción de transglicosilación) y su entrecruzamiento (reacción de transpeptidización). Dependiendo del tipo de bacteria, poseen un número variable de PBP. Estas proteínas son multimodulares y multifuncionales, en conjunto, son responsables de la polimerización del péptidoglicano, de su inserción en la pared celular y de su recambio. En función de su estructura y de la actividad catalítica del dominio amino-terminal se clasifican al menos en dos grupos, las clases A y B” (p. 10).

En ambos tipos, la actividad trans-peptidasa reside en el dominio carboxilo-terminal, donde se une la penicilina. En la clase A, el dominio amino-terminal es responsable de su actividad de transglicosidasa, catalizando la elongación de las cadenas de glicanos no entrecruzados, mientras que en la clase B este dominio parece desempeñar un papel en la morfo-génesis celular interaccionando con otras proteínas implicadas en el ciclo celular. En *Escherichia coli* se han estudiado con detalle las PBP; se han descrito hasta 12 PBP, tres de la clase A, dos de la clase B y siete de baja masa molecular (LMM). Dos de la clase A, PBP1a y PBP1b, son las principales transpeptidasas-transglicosilasas y la delección de alguna de ellas es letal para la bacteria. Las LMM están implicadas en la maduración o el reciclaje del péptidoglicano; entre ellas hay dos endopeptidasas (PBP4 y PBP7) que rompen los enlaces de entrecruzamiento entre las cadenas de glicano, y la PBP5 tiene actividad de carboxipeptidasas, rompiendo el enlace D-Ala-D-Ala del pentapéptido incapacitándolo para la reacción de transpeptidización” (Lizarbe, 2009, p. 10).

Dada la similitud estructural entre el sustrato natural (D-Ala-D-Ala) del pentapéptido precursor y la penicilina y demás B-lactámicos, las enzimas que participan en

la última etapa de la síntesis del péptidoglicano son sensibles a penicilina. Ésta forma un complejo acil-enzima que no tiene capacidad para entrecruzar el péptidoglicano. Además, la inhibición produce una acumulación de los precursores del péptidoglicano, los cuales inducen la activación de enzimas como hidrolasas y autolisinas que participan en la degradación del péptidoglicano remanente (Lizarbe (2009) pp. 10-11).

### **Membrana Citoplasmática**

El autor Struthers (2018) en el libro Microbiología Clínica menciona:

“Mientras que las células eucariotas tienen varios sistemas membranales de bicapa lipídica donde pueden realizar funciones metabólicas y de síntesis, las bacterias tienen solo la membrana cito-plasmática, que delimita el cito-plasma de la pared celular, la cual es esencial para el transporte de una amplia gama de compuestos dentro como fuera de la célula. Las entidades metabólicas y estructurales residen en la membrana cito-plasmática, las proteínas que residen en la membrana cito-plasmática o que deben ser secretadas fuera de la célula, se sintetizan en la proximidad de la membrana cito-plasmática” (p. 27).

Según los autores Canese & Canese (2012) en el libro manual de microbiología y parasitología médica mencionan que:

“La Membrana plasmática es la membrana interior situada debajo de la pared celular. Mide alrededor de 5 nm de espesor siendo permeable selectivamente. A través de ellas se excretan las exoenzimas. Su invaginación interna forma los mesosoma que tabican parcialmente el citoplasma en algunas bacterias; en la reproducción celular son los mesosomas los que inician el proceso de la partición los mesosomas laterales por su gran actividad enzimática equivalen a las funciones de las mito-condrias de las células superiores. El peso de la membrana plasmática equivale al 20-30 % del total bacteriano” (p. 143).

Los autores Jawetz, Melnick & Adelberg (2016) en su libro Microbiología Médica mencionan:

“La membrana celular bacteriana o membrana cito-plasmática es una unidad de membrana típica compuesta por fosfolípidos y hasta 200 diferentes tipos de

proteínas, las proteínas constituyen casi el 70% de la masa de membrana. Las principales funciones de la membrana citoplasmática son: 1) permeabilidad selectiva y transporte de solutos, 2) transporte de electrones y fosforilación oxidativa en especies aerobias, 3) excreción de exoenzimas hidrolíticas, 4) transporte de enzimas y moléculas que participan en la bio-síntesis de DNA y 5) portar receptores y proteínas quimiotácticas y otros sistemas sensoriales de transducción” (pp. 18-19).

### **1. Función membrana celular: Permeabilidad de transporte**

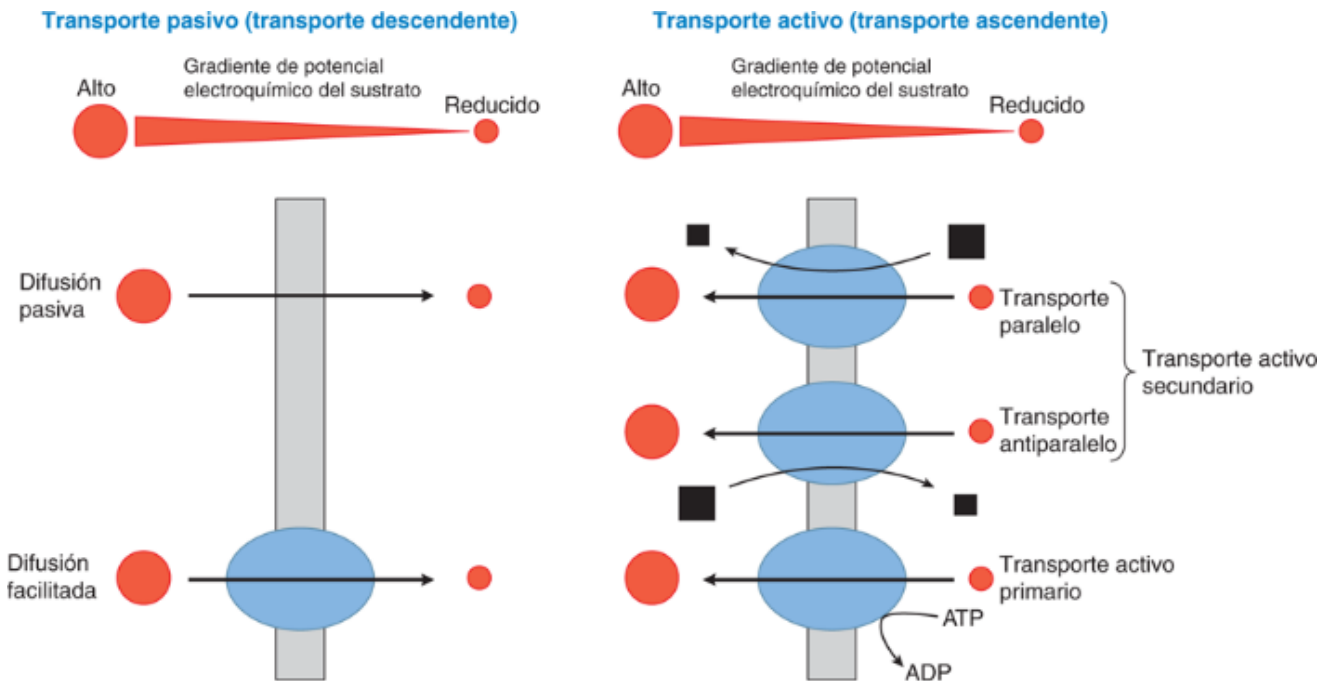
La membrana citoplasmica forma una barrera hidrófoba impermeable a la mayor parte de moléculas hidrofílicas, sin embargo, existen mecanismos que permiten el paso de nutrientes hacia el interior de la célula y productos de desecho hacia el exterior, estos sistemas de transporte trabajan contra de gradiente de concentración con el objetivo de incrementar la concentración de nutrientes en el interior de la célula (Jawetz, Melnick & Adelberg, 2016, p. 19).

Transporte pasivo es el mecanismo que depende de la difusión, no utiliza energía y este funciona sólo cuando el soluto se encuentra en mayor proporción fuera de la célula, entre ellos oxígeno, dióxido de carbono y agua. La difusión facilitada tampoco utiliza energía, esta difusión es selectiva, los conductos de proteínas forman conductos que facilita el paso de moléculas específicas. Transporte activo, muchos nutrientes se concentran más de 1000 veces como consecuencia del mismo transporte activo. Existen dos tipos de mecanismos de transporte activo, lo que depende de la fuente de energía utilizada: 1) transporte acoplado a iones, 2) transporte con casete unido a ATP (ABC) (Jawetz, Melnick & Adelberg, 2016, p. 19).

Transporte acoplado a iones, estos sistemas desplazan una molécula a través de la membrana celular siguiendo un gradiente iónico establecido. Hay tres tipos, transporte simple (uniporte), el cual cataliza el transporte de una sola sustancia en forma independiente de las otras, sin importar el ion acoplado. Cotransporte unidireccional (simporte) el cual cataliza el cotransporte, pero sustancias diferentes lo común es un soluto y un ion con carga positiva ( $H^+$ ) en el mismo sentido y el transporte bi-direccional

(antiporte) el cual consiste en el intercambio de dos solutos de carga similar en direcciones opuestas por un transportador en común (Jawetz, Melnick & Adelberg, 2016, p. 19).

Figura 11. Los 2 tipos de transporte pasivos y los 3 tipos de transportes activos



Fuente: Laurence L. Brunton, Bruce A. Chabner, Björn C. Knollmann: *Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica*, 12e: [www.accessmedicina.com](http://www.accessmedicina.com)  
Derechos © McGraw-Hill Education. Derechos Reservados.

Fuente: Goodman & Gilman, 2011.

En el caso de transporte ABC, este mecanismo emplea ATP directamente para el transporte de solutos hacia el interior de la célula. En bacterias Gram negativas el transporte de varios nutrientes se facilita por proteínas transportadoras (de unión) específicas que se ubican en el espacio periplasmático. Estas proteínas funcionan al transferir el sustrato de unión a un complejo proteínico unido a la membrana. Este proceso va a desencadenar la hidrólisis del ATP y esta energía es utilizada para abrir los poros (Jawetz, Melnick, Adelberg, 2016, p. 20).

Existen procesos especiales de transporte. El hierro (Fe) es un nutriente esencial para la proliferación de la mayor parte de las bacterias, en condiciones anaerobias se encuentra en su estado de oxidación +2 y en estado soluble y en condiciones aerobias se encuentra en su estado de oxidación +3 y en estado insoluble. Los compartimientos internos de la célula no contienen hierro libre, las bacterias solucionan este problema al

secretar sideróforos, compuestos que causan quelación de hierro y favorece su transporte. (Jawetz, Melnick, Adelberg, 2016, p. 20).

## **2. Función membrana celular: Transporte de electrones y fosforilación oxidativa**

Los citocromos y otras enzimas y componentes de la respiración incluyen ciertas deshidrogenasas que se ubican en la membrana celular, para que se dé una correcta respiración celular se necesita una membrana cerrada. Los electrones pasan de un reductor químico a un oxidante químico a través de un grupo específico de transportadores en la membrana, el retorno de protones a través de la membrana se acopla con la síntesis de ATP y el reductor biológico para la respiración con frecuencia es el NADH y el oxidante a menudo es el oxígeno (Jawetz, Melnick, Adelberg, 2016, p. 20).

## **3. Función de la membrana celular: Excreción de exoenzimas hidrolíticas y patogenicias de las proteínas**

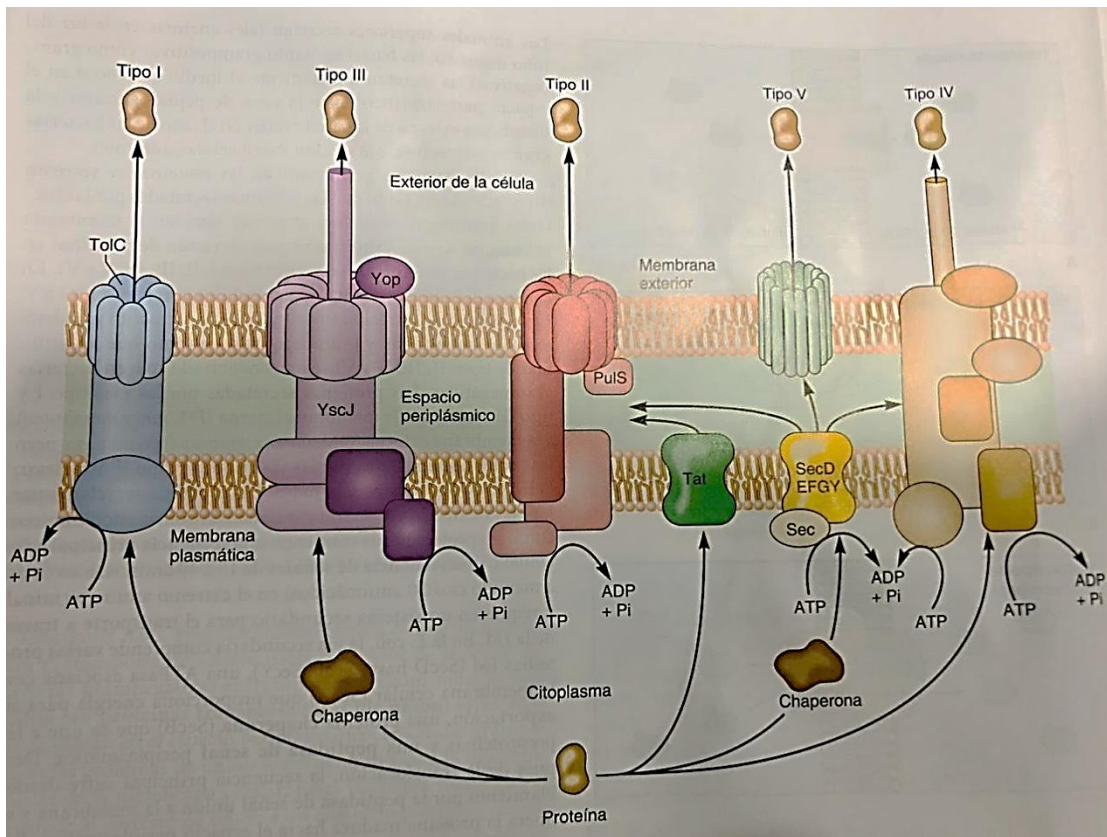
Todos los organismos que dependen de polímeros orgánicos macromoleculares como fuente de energía estos excretan enzimas hidrolíticas que desdoblan los polímeros hasta subunidades lo suficientemente pequeñas para penetrar la membrana celular, las bacterias secretan estas enzimas directamente medio externo o en el espacio periplasmático. Se ha descrito seis vías de secreción de proteínas I, II, III, IV, V, VI. Las proteínas secretadas por las vías tipo I y III atraviesan la membrana interna (IM) y membrana externa (OM) en un paso (Jawetz, Melnick, Adelberg, 2016, p. 20).

Las proteínas secretadas por las vías II y V atraviesan la membrana interna y externa en pasos separados y ambas son sintetizadas en el ribosoma cito-plasmático. En la *E. coli* la vía secundaria comprende varias proteínas IM (SecD hasta SecF, Sec) y una ATPasa asociada a membrana celular (SecA) que proporciona energía para su exportación, una proteína chaperona (SecB) que se une a las preproteínas y una peptidasa de señal periplasmática. Después de la translocación, la secuencia principal sufre desdoblamiento por la peptidasa de señal unida a la membrana y se libera la proteína madura hacia el espacio periplásmico (Jawetz, Melnick, Adelberg, 2016, p. 21).

Aunque las proteínas secretadas por los sistemas tipo II y V son similares el mecanismo por el cual cruzan la IM, estas difieren en cuanto cruzan la OM, las proteínas

secretadas por los sistemas tipo II se transportan por un complejo multiproteínico. La elastasa, fosfolipasa C y exotoxina son secretadas por la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*. La secreción de tipo I se ejemplifica con la hemolisina  $\alpha$  de *E.coli* y la adenil-ciclasa de la *Bordetella pertusi* (Jawetz, Melnick, Adelberg, 2016, p. 22).

Figura 12. Sistemas de secreción proteínas de bacterias Gram negativas



Fuente: Jawetz, Melnick, Adelberg, 2016, p. 22.

Según el autor Struthers (2018) en el libro Microbiología Clínica menciona:

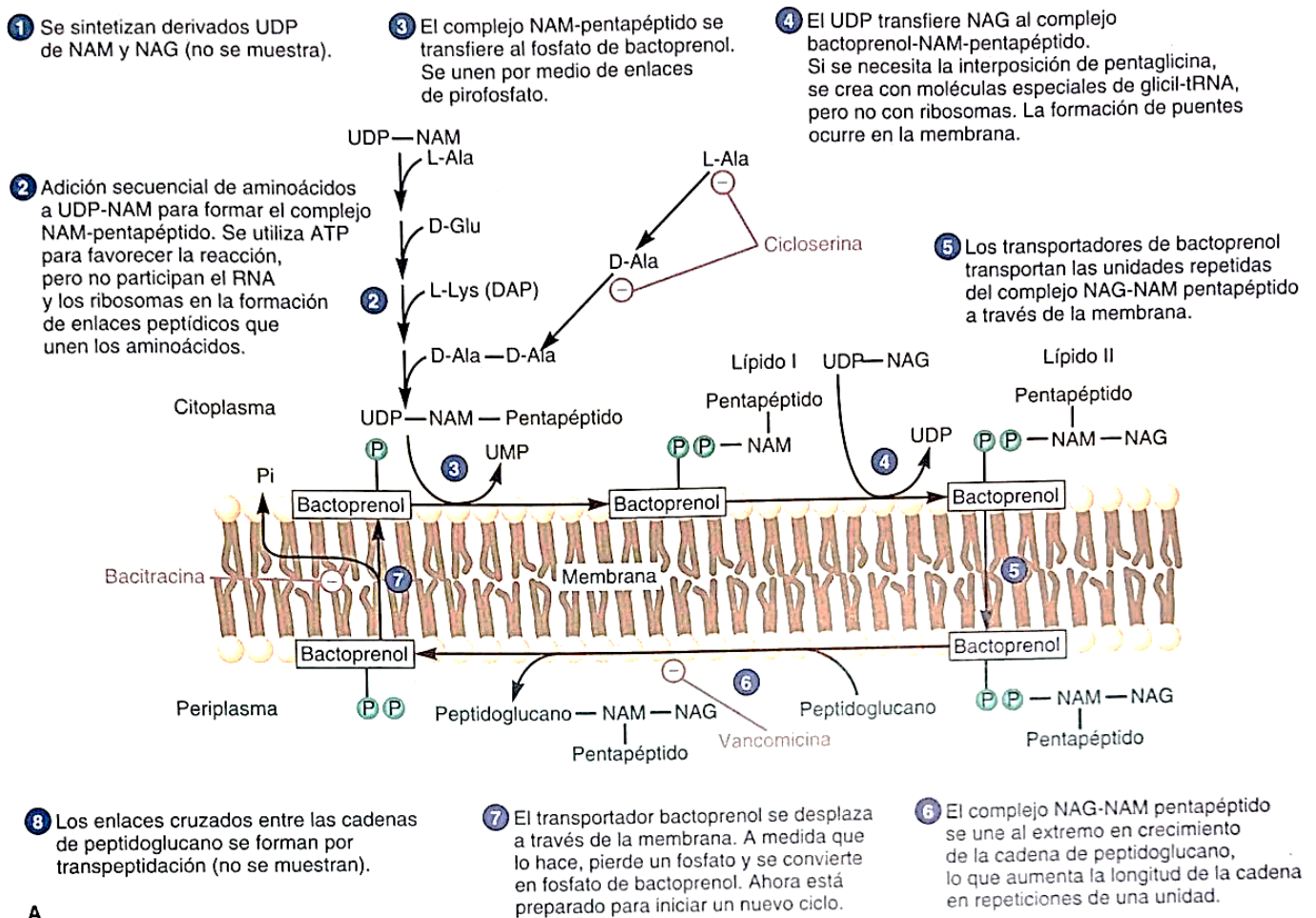
“Una propiedad patógena esencial de muchas bacterias es la capacidad de adherirse a superficies epiteliales y endoteliales, las adhesinas son las encargadas de permitirlo. Las cepas uro-patógenas de *Escherichia coli*, relacionadas con las infecciones de vías urinarias, colonizan el área peri-uretral de las mujeres susceptibles mediante adhesinas específicas, que reconocen los receptores en la superficie de la célula huésped. Desde ese lugar, las bacterias llegan a la vejiga a través de la uretra e inician la cistitis” (p. 28).

#### **4. Función de la membrana celular: Funciones de biosíntesis**

La membrana citoplasmica es el sitio de los lípidos transportadores sobre los cuales se ensamblan las subunidades de la pared celular. La síntesis de péptidoglicano inicia con una síntesis escalonada en el citoplasma de UDP-ácido N-acetilmurámico-pentapéptido. La N-acetil-glucosamina se une en primer lugar al difosfato de uridina (UDP) y luego se convierte a UDP-ácido-N-acetilmurámico por reacción con fosfoenolpiruvato y reducción. Los aminoácidos del pentapéptido se añaden de manera secuencial, con cada catalización por una enzima diferente (Jawetz, Melnick, Adelberg, 2016, p. 93). El complejo UDP-ácido-N-murámico-pentapéptido se une al bactoprenol (un lípido de membrana celular), el polisacárido completo se polimeriza a un intermediario oligomérico antes de ser transferido al extremo en crecimiento de un polímero de glucopéptido en la pared celular (Jawetz, Melnick, Adelberg, 2016, p. 93).

Los enlaces cruzados finales se llevan a cabo por una reacción de transpeptidación en la cual el grupo amino libre del residuo de pentaglicina desplaza el residuo terminal D-alanina del pentapéptido vecino (Jawetz, Melnick, Adelberg, 2016, p. 93). A diferencia de las células hospedadoras, las bacterias no son isotónicas con los líquidos corporales, su contenido se encuentra bajo altas presiones osmóticas y su viabilidad depende de que se conserve la integridad de la capa de peptidoglicano en la pared celular. Cualquier compuesto que inhiba algún paso en la bio-síntesis del peptidoglicano ocasiona que la pared celular de la célula bacteriana en crecimiento se debilite con la destrucción de la misma (Jawetz, Melnick, Adelberg, 2016, p. 93).

Figura 13. Síntesis del peptidoglicano



Fuente: (Jawetz, Melnick, Adelberg, 2016, p. 93).

## 5. Función de la membrana celular: Sistemas quimiotácticos

Las sustancias con capacidad de atracción y repulsión se unen a receptores específicos en la membrana bacteriana, Hay al menos 20 quimio-receptores diferentes en la membrana de *E. coli*. Algunos ejemplos de bacterias flageladas incluyen *la Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* y *Clostridium tetani*, estos flagelos son complejas estructuras de proteínas ancladas en la membrana celular. Junto con los sistemas de señalización química, las bacterias pueden usar sus flagelos para moverse hacia los nutrientes o alejarse de un entorno desfavorable (Struthers, 2018, p. 28).

### Composición de la membrana citoplasmática bacteriana

Los autores Epanand & Epanand (2009) en el artículo de revista, *Lipid domains in bacterial membranes and the action of antimicrobial agents* mencionan, que hay una gran diferencia en la composición lipídica de las membranas cito-plasmáticas bacterianas. Para la mayoría de las bacterias, el fosfolípido zwitteriónico predominante es la fosfatidiletanolamina (PE). En general, las bacterias Gram negativas tienen un mayor contenido de PE que las bacterias Gram positivas. Algunas bacterias Gram positivas tienen un contenido muy bajo de fosfolípidos zwitteriónicos. Los lípidos aniónicos predominantes en las membranas bacterianas son fosfatidilglicerol (PG) y cardiolipina. (CL) Todas las bacterias tienen al menos un 15% de lípidos aniónicos, pero esto puede ser PG o CL o ambos y no depende de si es un organismo Gram negativo o Gram positivo (p. 291).

Además, las bacterias Gram negativas el lipopolisacárido (LPS) forma el componente lipídico principal de la cubierta externa de la membrana externa. La membrana externa de las bacterias Gram negativas es permeable a las moléculas hidrofílicas más pequeñas que 600 Da debido a la presencia de porinas. Es la exposición de estos lípidos aniónicos, junto con LPS o LTA o péptidoglicano lo que proporciona la selectividad de los agentes antimicrobianos catiónicos para la toxicidad contra las bacterias, pero no contra las células de mamíferos (Epanand & Epanand, 2009, pp. 289, 291).

Figura 14. Composición lipídica de diversas bacterias Gram negativas

Especies bacterianas	% De lípidos totales		
	CL	PG	PE
<i>Bacterias Gram-negativo</i>			
<i>E. coli</i>	–	15	80
<i>E. cloacae</i>	3	21	74
<i>Y. kristensenii</i>	20	20	60
<i>P. mirabilis</i>	5	10	80
<i>K. pneumoniae</i>	6	5	82
<i>P. aeruginosa</i>	11	21	60

Fuente: Epanand & Epanand, 2009, p. 293.

De igual manera los autores Nowotarska, Nowotarski, Friedman & Situ (2014) en su artículo de revista sobre el efecto de la estructura sobre las interacciones entre cinco compuestos anti-microbianos naturales y fosfolípidos de la membrana bacteriana en monocapas modelo, mencionan que las bacterias Gram negativas son ricas en fosfolípidos zwitteriónicos en su membrana celular interna y externa, y también contienen fosfolípidos aniónicos, cardiolipina, mientras que las bacterias Gram positivas contienen predominantemente lípidos aniónicos. Los principales fosfolípidos de membrana de *E. coli* incluyen 75% de PE, 20% de PG y 5% de cardiolipina (p. 7499).

### **Cápsula de células pro-cariotas**

Según el autor Struthers (2018) en su libro Microbiología Clínica menciona:

“Diversas bacterias Gram positivas y Gram negativas tienen cápsulas las cuales son estructuras externas a la pared celular, por lo general consisten de polisacáridos, lo que permite a la bacteria resistir la fagocitosis por macrófagos y neutrófilos. La inyección de millones de neumococos no encapsulados en el peritoneo de un ratón no es letal, mientras que inyectar cientos de microorganismos encapsulados sí lo es” (p. 28).

Los polisacáridos no son particularmente buenos antígenos, su antigenicidad se mejora por conjugación con una proteína acarreadora. Clínicamente, el serotipo más importante de *Haemophilus influenzae* es el serotipo B (Hib), el cual puede causar una enfermedad invasiva, como la bacteriemia, meningitis y epiglotitis en niños menores de 5 años. La vacuna para esta enfermedad consiste en el polisacárido de la cápsula de fosfato de polirribosa ribitol (PrP) unido al toxoide tetánico (Struthers, 2018, p. 29).

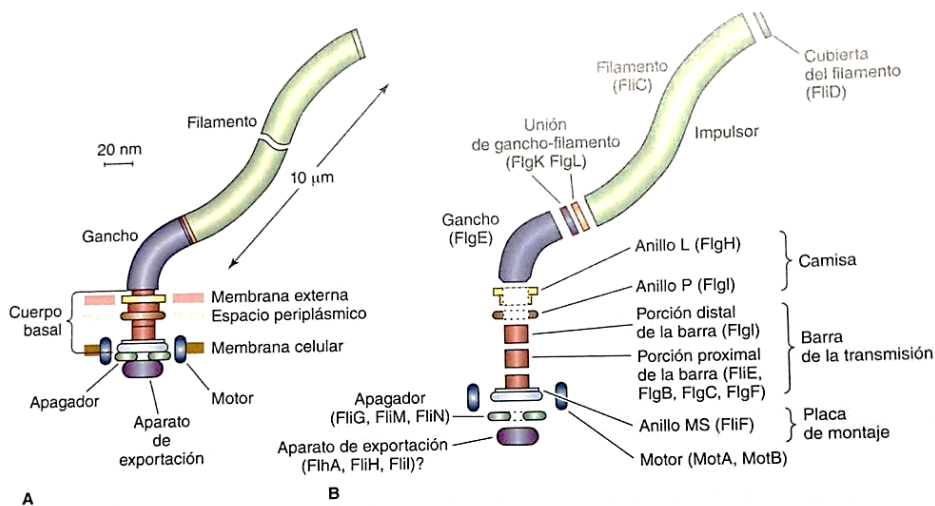
Los términos cápsula y capa mucilaginosa con frecuencia se utilizan para describir capas de polisacáridos, también se utiliza el término gluco-cáliz que define el material que se encuentra fuera de la célula y que contiene poli-sacáridos, una capa condensada, bien definida que rodea en forma estrecha a la célula. La cápsula contribuye a la capacidad de invasión de la bacteria patógena; las células encapsuladas están protegidas de la fagocitosis a menos que estén cubiertas con anticuerpos anti-capsulares. El glucocáliz participa en la adhesión bacteriana a las superficies de su entorno (Jawetz, Melnick, Adelberg, 2016, p.31).

## Flagelos de células procariotas

Los flagelos bacterianos son apéndices fusiformes compuestos en su totalidad por proteína, con un diámetro de 12 a 30nm, son órganos de locomoción. Se conocen tres tipos: monótrico (flagelo polar único), lofótrico (múltiples flagelos polares) y perítrico (flagelos distribuidos sobre la totalidad de la célula, estos flagelos en la mayoría de las bacterias, están compuesto de flagelina. El flagelo se forma por la agregación de subunidades a una estructura de forma helicoidal (Jawetz, Melnick, Adelberg, 2016, p. 33).

Los flagelos se unen al cuerpo celular bacteriano por una estructura compleja formada por un gancho y un cuerpo basal. El gancho actúa como una articulación entre el motor en la estructura basal y el flagelo, los grupos basales se encuentran con un par de anillos en las bacterias Gram positivas y dos pares en la bacterias Gram negativas; la rotacion generada por los flagelos funciona por un flujo de protones siguiendo el gradiente de concentracion producido por una bomba de protones primaria (Jawetz, Melnick, Adelberg, 2016, p. 33).

Figura 15. Estructura general del flagelo de una bacteria Gram negativa



**FIGURA 2-23** **A:** Estructura general del flagelo de una bacteria gramnegativa, como *Escherichia coli* o *Salmonella typhimurium*. El gancho filamentosos en el complejo corporal basal se ha aislado y se describe ampliamente. La ubicación del aparato de exportación no se muestra. **B:** Un diagrama del flagelo muestra la subestructura y proteínas a partir de las cuales se construye. La proteína FliF es responsable de la característica del anillo M, del anillo S y de la disposición en collar de las subestructuras que se muestran, que en conjunto se denominan anillo MS. Se desconoce la ubicación de FliE respecto al anillo MS y con la barra (y el orden de las proteínas FliB, FliC y FliF en la barra proximal). (Tomada de Macnab RM: Genetics and biogenesis of bacterial flagella. *Annu Rev Genet* 1992;26:131. Reproducida con autorización de *Annual Review of Genetics*, Volume 26, © 1992 by Annual Reviews.)

Fuente: Jawetz, Melnick & Adelberg, 2016, p. 16

### **Pilosidades (fimbrias) de células pro-cariotas**

Muchas bacterias Gram negativas poseen fimbrias los cuales son más cortos y más finos que flagelos y al igual que estos están compuestos de subunidades proteínicas estructurales denominadas pilinas. Las proteínas menores denominadas adhesinas se ubican en la punta de las pilosidades y participan en sus propiedades de unión, pueden distinguirse dos clases: pilosidades ordinarias, que participan en la adhesión de bacterias sintéticas y patógenas con las células del hospedador y pilosidades sexuales que participan en el mecanismo de unión de las células donadas y receptoras para la conjugación bacteriana (Jawetz, Melnick, Adelberg, 2016, p. 35).

Como los autores Prescott, Harley & Klein (2004) mencionan:

“Aunque el citoplasma bacteriano no contiene orgánulos membranosos complejos como mito-condrias o cloro-plastos se pueden observar estructuras en común como el meso-soma, estas invaginaciones de la membrana plasmática, conformando vesículas, túbulos o lámelas, observándose estas en bacterias Gram positiva con mayor prominencia que en las bacterias Gram negativas. Se piensa que deben participar en la formación de la pared celular durante la división o desempeñar un papel en la replicación del cromosoma y su distribución a células hijas” (p. 85).

### **Matriz cito-plasmática de células pro-cariotas**

La matriz citoplasmática es la sustancia situada entre la membrana plasmática y el nucleóide, la matriz está compuesta principalmente, por agua casi el 70% de la masa de la bacteria es agua. Proteínas específicas se sitúan en lugares particulares, como el polo celular y el punto donde la célula bacteriana se divide: así, aunque la bacteria carezca de cito-esqueleto, su matriz cito-plasmática presenta un sistema proteico con esa función. La membrana plasmática y todo el contenido inferior se denomina protoplasto, por tanto, la matriz cito-plasmática es una parte principal del protoplasto (Prescott, Harley, Klein, 2004, p. 86).

### **Cuerpo de inclusión de células pro-cariotas**

Numerosos cuerpos de inclusión, gránulos de material orgánico o inorgánico, que se encuentran en la matriz cito-plasmática. Estos cuerpos normalmente se utilizan como reserva y también reducen la presión osmótica mediante la agregación de moléculas en forma particulada. Algunos no están rodeados por una membrana y permanecen libres en el citoplasma, por ejemplo: gránulos polifosfato, cianoficina y de glucógeno. Otros están rodeados por una membrana, por ejemplo: gránulos de glucógeno, azufre, carboxisomas pro-toplasto (Prescott, Harley, Klein, 2004, p. 86).

Los cuerpos de inclusión de glucógeno y poli-P-hidroxibutirato (PHB) son reservas de carbono, que aportan material para obtener energía y realizar la biosíntesis. Los cuerpos de inclusión de gas les confieren a las bacterias la capacidad de flotar cerca de la superficie, ya que estos les dan flotabilidad a las bacterias por lo general a las ciano-bacterias, estas pueden regular su flotabilidad para permanecer en la profundidad necesaria para obtener una intensidad de luz, concentración de oxígeno y niveles de nutrientes adecuados. Entre los cuerpos de inclusión inorgánicos nos encontramos con: gránulos de poli-fosfato, el cual es un polímero lineal de orto-fosfatos unidos por enlaces éster que actúan como reservas de fosfato, componente importante de los ácidos nucleicos. Gránulos de azufre estos en las bacterias púrpuras foto-sintéticas pueden utilizar sulfuro de hidrógeno como dador de electrones en la foto-síntesis (Prescott, Harley, Klein, 2004, pp. 86, 88).

### **Nucleoíde de células procariotas**

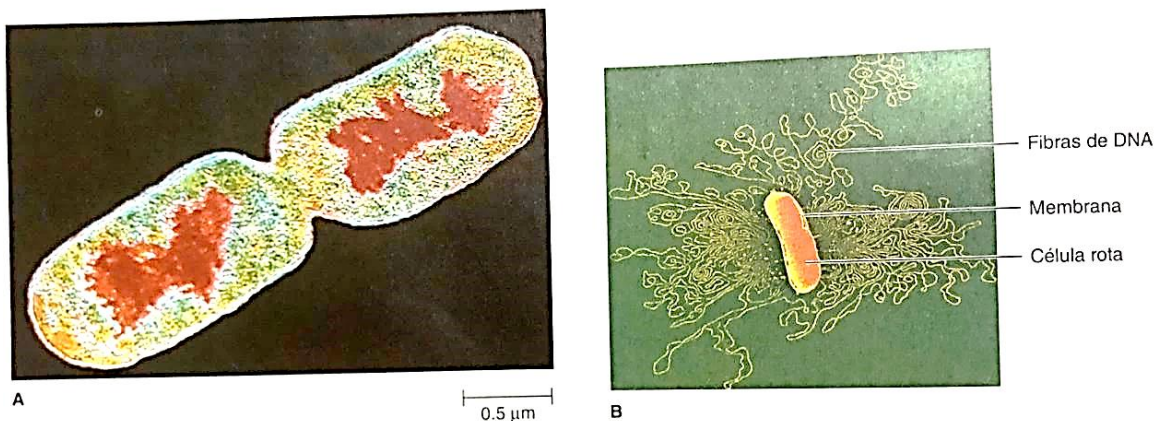
Según los autores Jawetz, Melnick & Adelberg (2016) en el libro Microbiología Médica menciona, las células procariotas no tienen un núcleo verdadero, almacenan su DNA en una estructura conocida como nucleoíde, el DNA de carga negativa es neutralizado en parte por poliaminas pequeñas y por iones de magnesio. Las micro-grafías electrónicas de células procariotas típicas revelan la presencia de membrana nuclear y un aparato mitótico, la región nuclear está llena de fibrillas de DNA, el nucleoíde de la mayor parte de las células bacterianas consiste en una molécula circular única y continua que varía en tamaño de 0.58 a casi 10 millones de pares de veces” (pp. 15-16).

Mencionan los autores Prescott, Harley & Klein (2004) en su libro Microbiología

“La diferencia más característica entre organismos procariontes y eucariotes es la forma de organización del material genético. Las eucariotas tienen dos o más cromosomas dentro de un orgánulo delimitado por una membrana, el núcleo. Por el contrario, las procariontes carecen de núcleo limitado por membrana. El cromosoma pro-cariótico casi siempre es constituido por un único círculo de doble cadena de ácido desoxirribonucleico (DNA) que está irregularmente distribuido en una zona amplia conocida como nucleóide. El nucleóide es visible al microscopio óptico, después de teñir la preparación con la técnica de Feulgen” (p. 91).

Numerosas bacterias poseen plásmidos, son moléculas circulares, de doble cadena de DNA, que pueden existir y replicarse independientemente del cromosoma o pueden integrarse a él, las cuales son heredadas a las células hijas. Los plásmidos no son necesarios para el crecimiento y la multiplicación del huésped, los genes plasmídicos pueden conferir capacidades metabólicas, transformarlas en patógenas o dotarlas de otras propiedades (Prescott, Harley, Klein, 2004, p. 91).

Figura 15. Nucleóide de una bacteria *Escherichia coli*



**FIGURA 2-6** Nucleoide. **A:** Microfotografía electrónica de transmisión resaltada con color de una *Escherichia coli* con su DNA en rojo. (© CNR SPL/Photo Researchers, Inc.) **B:** Cromosoma liberado de una célula de *E. coli* que fue lisada con delicadeza. Obsérvese qué tan comprimido debe encontrarse el DNA dentro de la bacteria. (© Dr. Gopal Murti/SPL/Photo Researchers).

Fuente: (Jawetz, Melnick & Adelberg, 2016, p. 16).

## Familias bacterias Gram negativas de interés

### Familia *Enterobacteriaceae*

La familia *Enterobacteriaceae* es un grupo heterogéneo y extenso de bacilos Gram negativos cuyo hábitat es el intestino del ser humano y de los animales. La familia comprende muchos géneros (*Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* y *Proteus*). Tienen las siguientes características: son bacilos Gram negativos, ya sea móviles con flagelos peritricos o no móviles; se multiplican en medios con peptona o extracto de carne, proliferan en medios aerobios y anaerobios (son anaerobios facultativos) fermentar en vez de oxidar la glucosa (Jawetz, Melnick & Adelberg, 2016, p. 231).

Según los autores Canese y Canese (2012) en el Manual de Microbiología y Parasitología Medica mencionan:

“La familia *Enterobacteriaceae* está constituida por bacilos Gram negativos biológicamente relacionados entre sí, habitantes del intestino del humano y de los animales, que pueden desarrollarse muchas veces en el suelo. Son bacilos pequeños que miden 1,5 hasta 6 um de largo por 0.3 a 1 um de grosor, son móviles con flagelos peritricos, a excepción de *Shigella* y *Klebsiella* que son inmóviles. El género *Klebsiella* posee una capsula evidente. Las fimbrias o pili, órganos de fijación están presentes en casi todos los géneros del grupo” (p. 203).

Todos los micro-organismos de la familia *Enterobacteriaceae* fermentan la glucosa, reducen nitratos a nitritos y son oxidasas negativas. En medios de cultivo las colonias son muy parecidas por lo que debe recurrirse a medios selectivos para detectar diferencias basadas en la fermentación de la lactosa. *Escherichia coli* y *Klebsiella* fermentan la lactosa. La transferencia de material genético puede dar lugar a híbridos tales como micro-organismos de la especie *E. coli* que adquieren plásmidos de *Salmonella* (Canese & Canese, 2012, p. 203).

Estas bacterias realizan estos cambios genéticos en forma natural en el intestino humano o animal. El factor de transferencia de resistencia (FTR) que codifica los mecanismos de resistencia bacteriana, puede ser transmitido desde un microorganismo a otro. Las bacteriocinas producidas por plásmidos bacterianos transmisibles, son sustancias bacterianas que son elaboradas por bacilos de esta familia, los micro-organismos que

integran la familia Enterobacteriaceae, hacen, rápidamente resistencia a los antibióticos, debido a la facultad que tienen de intercambiar entre una y otra especie, género o familia, los plásmidos de resistencia (Canese & Canese, 2012, p. 203).

Según los autores Prescott, Harley, Klein (2004) en el libro Microbiología mencionan:

“Las bacterias entéricas que producen grandes cantidades gas durante la fermentación del azúcar, por ejemplo; *Escherichia coli*, tienen el complejo hidrogenoliasa fórmica que degrada el ácido fórmico a H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. La mayoría de los géneros (*Escherichia coli*, *Proteus*, *Salmonella* y *Shigella*) llevan a cabo una fermentación ácido mixta y producen principalmente, lactato, acetato, succinato, formato. En la fermentación butanodiólica los principales son; butanodiol etanol y dióxido de carbono. *Serratia*, *Erwinia* y *Klebsiella* son bacterias fermentadoras butanodiólicas” (p. 581).

#### *Escherichia coli*

La autora Lizarbe (2009), menciona:

“Es un bacilo anaeróbico facultativo y gram-negativo. En 1885 fue descrita por el bacteriólogo alemán Theodore von Escherich, quién la llamó *Bacterium coli*, pero posteriormente se renombró como *Escherichia coli*, en honor a su descubridor. En *E. coli* se han estudiado con detalle las PBP; se han descrito hasta 12 PBP, 3 de la clase A, dos de la clase B y siete de baja masa molecular (LMM, Low Molecular Mass). Dos de la clase A, PBP1a y PBP1b, son las principales transpeptidasas-transglicosilasas y la delección de alguna de ellas es letal para la bacteria. Las LMM están implicadas en la maduración o el reciclaje del péptidoglicano; entre ellas hay dos endopeptidasas (PBP4 y PBP7) que rompen los enlaces de entrecruzamiento entre las cadenas de glicano” (p. 10).

La PBP5 tiene actividad de carboxipeptidasa, rompiendo el enlace D-Ala-D-Ala del pentapéptido incapacitándolo para la reacción de transpeptidización. Dada la similitud estructural entre el sustrato natural (D-Ala-D-Ala) del pentapéptido precursor y la penicilina y demás β-lactámicos, las enzimas que participan en la última etapa de la síntesis

del péptidoglicano son sensibles a penicilina. Ésta forma un complejo acil-enzima que no tiene capacidad para entrecruzar el péptidoglicano. Además, la inhibición produce una acumulación de los precursores del péptidoglicano, los cuales inducen la activación de enzimas como hidrolasas y autolisinas que participan en la degradación del péptidoglicano remanente (Lizarbe, 2009, p. 10).

Los autores Cansase & Canase (2012) en el libro Manual de Microbiología y Parasitología Medica indican:

“El hábitat es el intestino humano y animal. Son patógenos del tipo oportunistas. Pueden sintetizar vitaminas del grupo B. Producen colicinas, polipéptidos de acción bactericida, que actúan inhibiendo el desarrollo de otros miembros de la familia Enterobacteriaceae. Al ser eliminados con las heces contaminan el suelo y las aguas y debido a su escasa exigencia nutritiva y a la resistencia de los agentes externos, pueden sobrevivir durante bastante tiempo en el medio ambiente, desarrollándose en el agua y en los alimentos, de tal manera que su aislamiento constituye un buen indicador del grado de contaminación fecal de los mismos” (p. 204).

Las propiedades antigénicas de *Escherichia coli* presenta tres tipos principales de antígenos que son los somáticos O, los flagelares H y los capsulares K. Para la designación del tipo serológico del *E. coli*, se adopta la secuencia O-K-H. Los antígenos K presentan 3 sub-tipos denominados L-A-B. Ejemplo de nomenclatura: O 1 1 1: B 1 4: H2. Una clasificación más sencilla es la que se utiliza empleando como fórmula de tipificación únicamente los antígenos somáticos O y los flagelares H. Ejemplo: 078: H1 1 (enterotoxígeno), 0 124:H30 (enteroinvasor). Otros antígenos descritos en el *E. coli* son el MS (manosa-sensible) o tipo 1 y el MR (manosa resistente) o tipo 2. El tipo 1 sirve para la fijación de la bacteria a las células epiteliales del tracto urinario y el tipo 2 para la fijación a las células de la mucosa del intestino (Canese & Canese, 2012, p. 204).

Son factores de patogenicidad en *E. coli*: (1) el antígeno capsular K 1 que se encuentra en las cepas de *E. coli* causantes de procesos meníngeos y septicémicos en los recién nacidos. La cápsula tiene estructura similar a la presentada por la cápsula de *Neisseria meningitis*. Las *E. coli* con cápsula K1 resisten a la acción de los neutrófilos y del suero, son capaces de sobrevivir en el líquido cefalorraquídeo y aún en la sangre, debido a la similitud estructural que tiene el ácido polisialílico de la molécula de adherencia bacteriana con la célula nerviosa. (2) El antígeno O participa en los procesos de patogenicidad por medio de su unión a los receptores celulares (Canese Arquímedes, Canese Andrés (2012), p. 204).

(3) Las fimbrias S son importantes en el proceso de adherencia a las células del huésped, además están las fimbrias MS (sensibles a la manosa), que se unen a los receptores celulares que contienen manosa y las fimbrias P que se unen al grupo P de las células sanguíneas. (4) Las adhesinas junto con las fimbrias son los factores de adherencia que *E. coli* utiliza para su fijación a las células epiteliales del tubo digestivo y de las vías urinarias. Las adhesinas son proteínas de la superficie de la bacteria. (5) El LPS, por intermedio del lípido A es responsable de los procesos endotóxicos en los casos de bacteriemias (Canese Arquímedes, Canese Andrés, 2012, p. 204).

(6) Las enterotoxinas, la capacidad que tiene *E. coli* de producir estas toxinas depende de la presencia de plásmido. Se ha descrito la enterotoxina antigénica termolábil (LT), que estimula la acción de la adenilciclase de las células epiteliales de la mucosa del intestino delgado y aumenta la permeabilidad de la misma, favoreciendo la pérdida de líquidos y electrolitos. (Canese Arquímedes, Canese Andrés, 2012, p. 204).

### **Etiopatogenia de la bacteria *Escherichia coli***

Según los autores Jawetz, Melnick & Adelberg (2016) en el libro microbiología médica cita:

“*E. coli* es la causa más frecuente de infección de las vías urinarias y contribuye a casi el 90% de las infecciones primarias urinarias en mujeres jóvenes. Los síntomas y signos consisten en polaquiuria, disuria, hematuria y piuria. La mayoría de estas infecciones son causadas por un número pequeño de tipos de antígeno O que han elaborado específicamente, factores de virulencia que facilitan

la colonización y la infección. Estos micro-organismos son capaces de producir hemolisina, que es cito-tóxica y facilita la invasión de los tejidos, las cepas que producen pielonefritis expresan el antígeno K y elaboran fimbrias P que se unen al antígeno del grupo sanguíneo P” (p. 234).

En el último decenio ha surgido como patógeno significativo *E. coli* O25b/ST131. Este microorganismo ha sido exitoso como resultado de la capacidad de adquisición de factores de resistencia mediados por plásmidos, que codifican resistencia a antibióticos  $\beta$ -lactámicos. *E. coli* productora de diarrea es muy frecuente en todo el mundo, se clasifica con base en sus características y propiedades de virulencia, las propiedades de adherencia a las células epiteliales del intestino delgado o grueso son codificadas por genes presentes en los plásmidos (Jawetz, Melnick & Adelberg, 2016, p. 234).

*Escherichia coli* entero-patógena (EPEC) es una causa de diarrea en lactantes, EPEC se adhiere a las células de la mucosa del intestino delgado, para que surja la patogenicidad se necesitan dos factores, la fimbria formadora de pilis codificada por un plásmido y el islote de patogenicidad del locus cromosómico de borramiento del enterocito (LEE) que induce la adherencia estrecha que es característica de EPEC (fijación y borramiento). Después de la fijación desaparecen las microvellosidades (borramiento) y se forman pedestales de actina filamentosa o estructuras caliciformes. El resultado de la infección por EPEC en lactantes comprende la diarrea acuosa, vómitos y fiebre (Jawetz, Melnick & Adelberg, 2016, p. 234).

*Escherichia coli* entero-toxigénica (ETEC) causa frecuente de la “diarrea del viajero” los factores de colonización de ETEC (pili conocidos como antígenos del factor de colonización) que son específicos de ser humano inducen la adherencia de ETEC a las células epiteliales del intestino delgado, algunas cepas de ETEC producen una enterotoxina termolábil (peso molecular 80 000) bajo el control genético de un plásmido. Su subunidad B se une a GM<sub>1</sub>, gangliósido en la membrana apical del enterocito y facilita la penetración de la subunidad A (peso molecular 26 000) en la célula (Jawetz, Melnick & Adelberg, 2016, p. 235).

En esta última activa la adenilciclase la cual incrementa extraordinariamente la concentración local de monofosfato de adenosina cíclico, dando como resultado final una hiper-secreción intensa y duradera de agua y cloruros e inhibición de la resorción de sodio. El interior del intestino muestra distensión por líquido y surgen hiper-motilidad y diarrea por días (Jawetz, Melnick & Adelberg, 2016, p. 235).

*Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC), se denominan así por las toxinas citotóxicas que producen, existen dos formas antigénicas Shiga 1 y Shiga 2. STEC se ha relacionado con diarrea leve no sanguinolenta, colitis hemorrágica y síndrome hemolítico urémico (una enfermedad que desencadena insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica micro-angiopática y trombo-citopenia). Una dosis infecciosa baja de <200 UFC se asocia con infección de más de 150 serotipos de *E. coli* que producen toxina de Shiga, O157:H7 es la más común y la que se encuentra con mayor facilidad en las muestras de seres humanos (Jawetz, Melnick & Adelberg, 2016, p. 235).

STEC O157:H7 no consume sorbitol, lo que diferencia de las otras cepas de *E. coli* y es negativa en el agar MacConkey con sorbitol. En muchos laboratorios se practican pruebas para detectar las dos toxinas de Shiga y para ello, utilizan enzimo-inmuno-ensayos comerciales, es posible evitar muchos casos de colitis hemorrágica por medio de la cocción completa de carne molida de res y evitar el uso de productos no pasteurizados (Jawetz, Melnick & Adelberg, 2016, p. 235).

*Escherichia coli* enteroinvasiva (EIEC) produce una enfermedad muy similar a la shigelosis. Al igual que *Shigella*, las cepas de EIEC no fermentan lactosa o la fermentan en una etapa tardía y son inmóviles. *Escherichia coli* entero-agresiva (EAEC) produce una diarrea aguda y crónica (mayor de 14 días de duración). Este grupo de *E. coli* productora de diarrea es muy heterogéneo y no se ha dilucidado del todo sus mecanismos patógenos exactos, algunas cepas producen una enterotoxina codificada por un plásmido que ocasiona daño celular (Jawetz, Melnick & Adelberg, 2016, p. 236).

Los autores Cansase & Canase (2012) en el Manual de Microbiología y Parasitología Medica mencionan:

“Infecciones extra-intestinales *Escherichia coli* es el agente más importante de las infecciones urinarias adquiridas, tanto del hombre como de las mujeres. La infección urinaria por *E. coli* puede producirse por la vía descendente (hematógena) o por la vía ascendente, causada por bacterias que asientan en el colon y que puede ascender por la uretra, vejiga y uréter, hasta llegar al riñón. También es agente de infecciones pulmonares, desarrolla generalmente neumonías por aspiración en adultos mayores. El 75% de las cepas de *E. coli* que poseen el antígeno K, habitan generalmente en el intestino de la madre como en el recién nacido, siendo las fuentes de infección de las meningitis neonatales, es el micro-organismo más frecuente, entre el 40 y el 80%, con un elevado índice de mortalidad” (p. 205).

El papel de *Escherichia coli* en una infección intestinal debe ser cuidadosamente interpretado, ya que es un micro-organismo normal en la flora intestinal. Para asignarle alguna significación patógena, deben descartarse todas las etiologías que puedan explicar el cuadro clínico, además debe demostrarse que *Escherichia coli* aislado pertenece por sus características antigénicas a uno de los grupos patógenos intestinales (Canese & Canese, 2012, p. 205).

Los autores Do Nascimento *et al.* (2017), mencionan que *Escherichia coli* enteroagregativa (EAEC) se identificó por primera vez como causa de infecciones gastrointestinales (GI) en 1987 y se caracterizó originalmente por su capacidad de adherirse a las células epiteliales (HEp-2) en un patrón de ladrillo apilado. Recientemente, los EAEC 'típicos' se han definido como EAEC que albergan el factor clave de virulencia AggR, un miembro de la familia AraC / XyIS de reguladores de la transcripción bacteriana dicho gen *aggR* se encuentra en el plásmido de adherencia agregante y controla una serie de genes que codifican factores de virulencia ubicados tanto en el plásmido como en el cromosoma (p. 2).

EAEC son capaces de originar diarreas acuosas agudas o persistentes (con o sin moco) en niños, predominantemente en países de bajos ingresos y está asociada con diarrea del viajero, en niños y adultos en países de ingresos medios y altos, otros síntomas incluyen

náuseas y vómitos, anorexia, borborigmo y tenesmo. En países de bajos ingresos, la propensión de EAEC a causar diarrea persistente durante > 2 semanas se asocia con una morbilidad significativa. Aunque los síntomas pueden persistir durante semanas, la infección suele ser auto limitada y el tratamiento estándar recomendado es la terapia de rehidratación oral. Sin embargo, los síntomas pueden ser debilitantes y tener un alto impacto socioeconómico, particularmente, en entornos de bajos ingresos, y se puede buscar tratamiento si la diarrea y el dolor abdominal son severos y / o prolongados (Do Nascimento *et al.* 2017, pp. 2-3).

Según los autores Losada *et al.*, (2019), señalan que *Escherichia coli* es el organismo responsable de la mayoría de infecciones del tracto urinario (ITU), en comunitarias causando el 75-95% de episodios de cistitis aguda no complicada. El objetivo de los autores fue conocer el espectro de sensibilidad de *E. coli* en infecciones del tracto urinario para recomendar el mejor tratamiento empírico adecuado esto mediante la participación de cuarenta y tres mil ciento treinta y seis (43.136) participantes ambulatorios con infección del tracto urinario por *E. coli* aislados en orina en el periodo 2016/2017 procedentes de 8 hospitales públicos gallegos, España (pp. 1, 7).

### **Tratamiento**

No se dispone de ningún tratamiento individual específico. Las sulfonamidas, la ampicilina, las cefalosporinas, las fluoroquinolonas y los aminoglucósidos tienen efectos considerables contra los microorganismos entéricos. El tratamiento de la bacteriemia por Gram negativos y el choque séptico inminente exige la instauración rápida de antimicrobianos, el restablecimiento hidroeléctrico y el tratamiento de la coagulación intravascular diseminada. Uno de los mecanismos propuestos para evitar la diarrea del viajero es la ingestión diaria de suspensión de bismuto ya que interacciona con la enterotoxina de *E. coli in vitro* (Jawetz, Melnick & Adelberg, 2016, p. 236).

Los autores Losada *et al.*, (2019), señalan en el estudio, que se analizaron los medicamentos que no presentan sensibilidad por *E. coli* en muestras de orina de pacientes ambulatorios remitidos por 8 hospitales públicos gallegos (España), se muestran cifras de no sensibilidad a cotrimoxazol superiores al 20%, cifra por la cual no se recomienda su uso como tratamiento empírico. Tampoco se puede considerar al ciprofloxacino ni a la

amoxicilina/ácido clavulánico como elección dado su alto porcentaje de no sensibilidad. Por otra parte, la no sensibilidad a carbapenemes es poco frecuente (< 1%), aunque se duplicó en 2017 con relación a 2016, pero esas diferencias no son estadísticamente significativas, aclaran los autores. En el estudio, los autores Losada *et al.*, deducen que la fosfomicina y la nitrofurantoína, por su bajo porcentaje de no sensibilidad continúan siendo el tratamiento empírico de elección en Galicia (España) en las infecciones del tracto urinario (p. 6).

De igual manera Los autores Losada *et al.*, (2019), mencionan que:

“Debe tenerse en cuenta, además, que según la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), se han notificado reacciones adversas graves, especialmente, pulmonares o hepáticas, en tratamientos profilácticos prolongados o intermitentes de meses de duración con nitrofurantoína, por lo cual la AEMPS recomienda utilizarla exclusivamente en el tratamiento de la cistitis aguda (durante un máximo de 7 días) en mujeres a partir de los 3 meses de edad. No está recomendado su uso profiláctico (más de 7 días) o en pautas intermitentes, y no está indicada en el tratamiento de ITU en varones, ni en infecciones de vías urinarias altas, bacteriemia o sepsis secundaria a la misma. Su uso está contraindicado en caso de insuficiencia renal con aclaramiento de creatinina inferior a 45 ml/min” (p. 6).

Figura 16. Porcentajes de bacterias no sensibles a distintos antibióticos

Antibiótico	2016	2017
Ciprofloxacino	25,7	26,6
Amoxicilina/ácido clavulánico	16,6	18,9
Cefotaxima	6,7	6,8
Gentamicina	8,9	9,3
Cefepime	5,6	5,8
Fosfomicina	3,4	3,3
Nitrofurantoína	2,9	2
Cotrimoxazol	23,5	24,2
Imipenem	0,03	0,06

Fuente: Losada *et al.*, 2019, p. 4

Por otra parte, los autores Cabrera *et al.*, (2019), realizaron un estudio en el cual determinan la susceptibilidad antimicrobiana, los patrones de resistencia y el comportamiento de las cepas de *Escherichia coli* uropatógena multi-drogorresistentes. Para esto realizaron un estudio descriptivo retrospectivo, desde el 1 de junio 2017 hasta el 31 de diciembre 2018. El cual estuvo formado por 265 cepas de *Escherichia coli* aisladas de urocultivos, de pacientes ambulatorios con sospecha de infección del tracto urinario, de dos instituciones de salud: Hospital Aleida Fernández Chardiet y Centro Municipal de Higiene, Epidemiología y Microbiología, provincia de Mayabeque, Cuba. Entre los resultados más destacados se observaron niveles de sensibilidad por encima del 90% a los antibióticos fosfomicina, amikacina y nitrofurantoína, siendo estos los recomendados por los autores como terapia de primera opción (p. 1).

La mayor resistencia encontrada por los autores Cabrera *et al.*, (2019), fue para ácido nalidíxico (86,1%), trimetoprim-sulfametoxazol (81,4%), ceftazidima (72%), y ciprofloxacina (68,7%). Las causas que asignan los autores a esta resistencia son por razones como el uso indiscriminado de antibióticos en la atención primaria y secundaria, mutaciones espontáneas o transferencia de ácido desoxirribonucleico (ADN) a los microorganismos. Además, que se indican tanto para otros procesos infecciosos como respiratorios, digestivos y cutáneos. Por otro lado, los autores mencionan que, desde hace muchos años, la nitrofurantoína se prescribe en Cuba y otros países como bacteriostático en la ITU. Diferentes estudios de vigilancia del comportamiento de cepas de *E. coli* con la nitrofurantoína realizados en Irán, Cuba, Etiopía y Estados Unidos de América han observado una escasa o nula selección de cepas resistentes, con reportes de valores de sensibilidad [(86,5%), (90,6%), (91%) y (100%)], respectivamente, a la droga (p. 10).

Los autores Cabrera *et al.* (2019), señalan que la amikacina sigue mantiene tasas bajas de resistencia en el contexto local (Cuba), por lo que la consideran como tratamiento de primera línea en el paciente hospitalizado. Además, recomiendan un antibiótico con alta eficacia sobre el agente sospechado, con muy buena distribución corporal, alta concentración en vías urinarias y baja toxicidad, con respuesta rápida y efectiva al tratamiento, que evite la recurrencia y aparición de resistencia antimicrobiana. En este sentido, la fosfomicina posee acción bactericida, es de amplio espectro, inhibe la síntesis de

la pared bacteriana y se une por competición, por ser análogo al mureina A, y no presenta resistencia cruzada con ningún otro antibiótico (p.11).

### **Familia *Pseudomonadaceae***

Según los autores Prescott, Harley & Adelberg (2004) en el libro Microbiología señalan:

“El género *Pseudomonas* es el más importante del orden *Pseudomonadales*, familia *Pseudomonadaceae*. Dicho género contiene bacilos Gram negativos rectos o ligeramente curvados los cuales se desplazan mediante uno o varios flagelos polares. Estas bacterias quimio-heterótrofas son aerobias y llevan a cabo un metabolismo respiratorio utilizando O<sub>2</sub> como aceptor de electrones. Todas las *Pseudomonas* tienen un ciclo de los ácidos tricarboxílicos funcional y pueden oxidar sustratos a CO<sub>2</sub>.” (p. 577).

Este género es un taxón heterogéneo compuesto por 70 o más especies, muchas pueden clasificarse en uno de cinco grupos por homología del rRNA se subdividen en función de propiedades tales como la presencia de poli-[3-hidroxi-butarato] (PHB), la producción de un pigmento fluorescente, la patogenicidad, la presencia de arginina dihidrolasa y la utilización de glucosa. Un ejemplo es el subgrupo fluorescente, no acumula PHB y produce un pigmento verde-amarillento, difusivo e hidro-soluble, que produce fluorescencia bajo radiación U.V. A este grupo pertenece *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida* y *P. syringae* (Prescott, Harley, Klein, 2004, p. 577).

Las *Pseudomonadales* tienen un gran impacto práctico en diversos aspectos entre ellos:

1. Muchas de ellas pueden degradar gran variedad de moléculas orgánicas. Las cuales son importantes en el proceso de mineralización (descomposición microbiana de materia orgánica en sustancias inorgánicas) y su uso también abarca el tratamiento de aguas residuales.
2. Varias especies de *Pseudomonas aeruginosa* son importantes sujetos de experimentación, se ha secuenciado el genoma de *Pseudomonas aeruginosa* es muy grande, alrededor de 6.3 millones de pares de bases y mucho más complejo

que *E. coli*. *Pseudomonas aeruginosa* tiene un número alto de genes para el catabolismo; el transporte de nutrientes, el flujo de moléculas orgánicas y la regulación del metabolismo

3. Algunos *Pseudomonadales* son patógenos importantes de animales y plantas como lo es *Pseudomonas aeruginosa* que infecta a personas bajas de defensas como pacientes con fibrosis quística e invade zonas de quemaduras o produce infecciones de las vías urinarias
4. *Pseudomonas fluorescens* están implicadas en el deterioro de leche, carne, huevos y marisco refrigerados, dado que crece a 4°C y degrada lípidos y proteínas

### ***Pseudomonas aeruginosa***

Según los autores Jawetz, Melnick & Adelberg (2016) en el libro Microbiología Médica menciona:

“*Pseudomonas* son bacilos Gram negativos, móviles y aerobios, algunos capaces de producir pigmentos hidrosolubles. Tienen amplia distribución en el suelo, el agua, las plantas y los animales. *Pseudomonas aeruginosa* suele estar presente en la micro-biota intestinal normal y en la piel del ser humano. Suele encontrarse en medios húmedos en los hospitales, puede colonizar al ser humano en los hospitales, quien es un saprofito; causa enfermedades en personas con defensas afectadas, especiales pacientes con neutropenia” (p. 245).

*Pseudomonas aeruginosa* es un bacilo aerobio obligado que se multiplica con facilidad en muchos medios de cultivo, produce un olor dulce parecido al de uvas o tortilla maíz. *Pseudomonas aeruginosa* forma colonias redondas y lisas con un color verdoso fluorescente gracias al pigmento pioverdina, piocianina suele producir el pigmento azulado no fluorescentes o el pigmento rojo oscuro (piorrubina) o negro (piomelanina). Los cultivos de pacientes con fibrosis quística forman colonias mucoides como resultado de la producción excesiva de alginato un exopolisacárido el cual proporciona una matriz para que el microorganismo viva (Jawetz, Melnick & Adelberg, 2016, p. 246).

*Pseudomonas aeruginosa* se multiplica bien a una temperatura de 37 a 42°C, su crecimiento a 42°C ayuda a distinguirla de otras especies de *Pseudomonas* en el grupo

fluorescentes; es oxidasa positiva, no fermenta carbohidratos. *P. aeruginosa* produce cuatro toxinas secretadas de tipo III que causan muerte celular o interfieren en la respuesta inmunitaria del hospedador a la infección. Las exoenzimas S y T son enzimas bifuncionales con actividad de GTPasa y ribosiltransferasa de ADP; la exoenzima U es una fosfolipasa y la exoenzima Y es una adenilato ciclasa (Jawetz, Melnick & Adelberg, 2016, pp. 246-247).

Según los autores Canase & Canase (2012) en el libro Manual de Microbiología y Parasitología Médica mencionan que los factores que intervienen en el desarrollo de la capacidad patogénica de *P. aeruginosa* son:

Primeramente, los pilli, que favorecen la adherencia. El glicocalix, que protege a la bacteria contra la fagocitosis. Los flagelos, que le confieren motilidad para la invasión tisular. La adherencia, en la que intervienen varios factores. La piocianina, que actúa disminuyendo la actividad de los cilios de las células del epitelio bronquial. El antígeno LPS. La exotoxina A, bloquea la síntesis de las proteínas en las células eucariotas. Esta toxina se parece mucho a la toxina diftérica, aunque es bastante menos tóxica. Probablemente actúan en las dermonecrosis, infecciones pulmonares crónicas y lesiones corneales. La principal acción de la toxina A es sobre el hígado, a diferencia de la toxina diftérica que actúa sobre el corazón (Canase & Canase, 2012, p. 223).

De igual manera presenta la exotoxina S que produce necrosis celular en el huésped, es termoestable e inhibe la síntesis de proteínas. Dos tipos de hemolisina que provocan necrosis celular. Las citotóxicas que actúan sobre un variado grupo de células. Las enterotoxinas que producen cuadros intestinales de enterocolitis pseudo-membranosa. Diferentes clases de proteasas, una de las cuales es la elastasa que provoca lesiones córneas y que también ataca las fibras elásticas de las paredes de los vasos sanguíneos, inhiben a los neutrófilos e inactiva a los anticuerpos. Fosfolipasa C, que descompone la lectina y los fosfo-lípidos, colaborando en la desintegración tisular, durante las infecciones por este micro-organismo (Canase & Canase, 2012, p. 223).

Por otro lado, el autor Martínez (2015), en su trabajo final de grado menciona, la *Pseudomonas aeruginosa* es un bacilo Gram negativo, oxidasa positiva, no- fermentador de la glucosa, con una gran movilidad gracias a sus fimbrias, pilis sexuales y su flagelo polar, existen 2 tipos de cepas en función del exopolisacarido que secretan; las no mucoides y

mucoides. Este micro-organismo presenta tres características clave para su patogenicidad: es versátil, es decir, es capaz de adaptarse fácil y rápidamente a cambios en el medio; es cosmopolita, capaz de vivir en múltiples medios; y es resistente, tanto a factores medio-ambientales como a antimicrobianos (p. 6).

*Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno aerobio y quimiorganotrofo, es decir, capaz de usar muchos compuestos orgánicos como fuentes de carbono y nitrógeno, e incluso a veces capaz de crecer en el agua destilada usando los restos de nutrientes. Además, es capaz de sobrevivir en poblaciones de baja densidad poblacional en un rango de temperatura entre los 4 y los 42°C, estas características lo convierten en un microorganismo ubicuo, que puede habitar en los suelos en la materia orgánica en descomposición, en la vegetación y en los ambientes acuosos (incluso en ambientes acuosos inanimados). También puede colonizar a animales, desde gusanos y moscas de las plantas hasta mamíferos, incluyendo al ser humano (Martínez, 2015, p. 7).

Los factores de virulencia que posee la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* son múltiples, lo que le permite mejorar y prolongar su adherencia a distintas superficies celulares y, por tanto, aumentar el tiempo de contacto con el tejido a infectar, transmitir toxinas directamente al citosol de la célula hospedadora, quelar el  $\text{Fe}^{3+}$  para adaptar el medio a sus requerimientos nutricionales o comunicarse con otras células bacterianas. Piocianina (PYO) es un pigmento azul, hidrosoluble y no fluorescente. Su contribución al proceso infeccioso se debe a que es un componente redox que atraviesa las membranas celulares oxidando los nucleótidos como el NADPH y generando ROS (especies reactivas del oxígeno), que someten a la célula a estrés oxidativo. Un ejemplo, son las células del epitelio respiratorio, las cuales sufren una disminución de su capacidad de cicatrización y de expulsión de las bacterias inhaladas y un aumento de la producción de mucus (Martínez, 2015, p. 7).

Compuestos como la fluoresceína o pioverdina son pigmentos de color amarillo, hidrosoluble y fluorescente. Es un sideróforo constituido por una cadena peptídica variable y un cromóforo. Tiene la capacidad de quelar al  $\text{Fe}^{3+}$ , metal importante nutricionalmente para *P. aeruginosa*. Posee una alta afinidad por este metal, siendo capaz de desplazarlo de su unión a la transferrina. Su contribución a la infección se debe a que el  $\text{Fe}^{3+}$  está presente

en muy bajas concentraciones en los medios en los que crece *Pseudomonas aeruginosa*, como son los medios oxigenados, por ello lo quela, para poder aprovecharlo y el Sistema de Secreción Tipo III: complejo macromolecular constituido por el Sistema de Secreción o Needle Complex (“forma de aguja”), el Sistema de Translocación y las toxinas eefectoras. Su papel en la infección es el de transmitir toxinas desde la bacteria hasta el citosol de la célula hospedadora. El Needle Complex está formado por el cuerpo basal y el inyectisoma (Martínez, 2015, p. 8).

Las exotoxinas se dividen en A, S y T, donde la exotoxina A: mono-ADP-ribosiltransferasa que afecta a la síntesis celular de proteínas mediante la catalización de la ADP ribosilación del factor 2 de elongación eucariótico. Es liberada como pro-enzima, y pasa a la forma completamente activa mediante proteólisis por la endoproteasa furina, entrando en la célula hospedadora por endocitosis. Las exotoxinas S y T: poseen un dominio GAP y un dominio ADPRT. El GAP las dota a ambas de la capacidad de inactivar a las GTPasas, causando la desorganización del esqueleto de actina y provocando la fago-citosis de la célula. El dominio ADPRT tiene actividad ADP ribosilasa coopera con el GAP para la desorganización del esqueleto de actina, retrasa la curación de heridas y provoca la apoptosis celular. En la ExoS también desorganiza el esqueleto actínico, inhibe la síntesis de ADN e induce la apoptosis (Martínez, 2015, p. 9).

Los biofilms permiten la adhesión de las bacterianas a las superficies celulares dónde se va a producir la infección, favoreciendo la colonización. Además, constituye la resistencia intrínseca de las bacterias, protegiéndolas de los anti-microbianos y favoreciendo la permanencia de dicha infección. Aparte de las superficies celulares, los biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* tienen una elevada afinidad por el plástico, tal y como se ha demostrado en los estudios “in vitro”. Esta característica permite al patógeno crecer en instrumental médico tal como catéteres, sondas y sistemas de ventilación, favoreciendo el desarrollo de la infección nosocomial, además de poseer el QS el cual es un sistema de comunicación intercelular cuyo papel en el proceso infeccioso consiste en la participación del mantenimiento de las colonias, la regulación de la síntesis de factores de virulencia como exoenzimas y metabolitos, así como la formación del biofilms y el consiguiente aumento de la resistencia a anti-microbianos (Martínez, 2015, p. 10).

### **Etiopatogenia de la bacteria *Pseudo-monas aeruginosa***

*Pseudomonas aeruginosa* tiene acción patógena solo cuando se introduce en zonas sin defensas normales, como en el caso de mucosas y la piel afectada por daño hístico directo, como ocurre en las quemaduras, cuando se introducen sondas o catéteres por vía intravenosa o vesical, cuando existe neutropenia. Las bacterias se adhieren a las mucosas o la piel. El lipo-posacárido interviene de forma directa en la aparición de fiebre, estado de choque, oliguria, leucocitosis y leucopenia, coagulación intravascular diseminada y síndrome de insuficiencia respiratoria (Jawetz, Melnick & Adelberg, 2016, pp. 246-247).

La afectación del sistema respiratorio, sobre todo se da por respiradores contaminados, produce neumonía necrosante, la bacteria a menudo se encuentra en la otitis externa leve en nadadores, puede generar otitis externa invasora en diabéticos. La infección ocular puede desencadenar la destrucción rápida del ojo más frecuente después de lesiones o procedimientos quirúrgicos. En lactantes o en personas debilitadas puede invadir circulación sanguínea y producir septicemia, esto suele ocurrir en los pacientes con leucemia o linfoma que han recibido antineoplásicos o radioterapia y en aquellos con quemaduras graves. A veces se puede detectar verdoglobina un producto de la degradación de la hemoglobina (Jawetz, Melnick & Adelberg, 2016, p. 247).

Infecciones pulmonares (neumonías): localizadas en las vías respiratorias inferiores la gravedad varía desde una colonización asintomática hasta una bronco-neumonía necrotizante grave, la capacidad de *P. aeruginosa* para formar biofilms, entre otras cosas, a la comunicación entre las bacterias (*quorum sensing*) hace que sea común el desarrollo de fibrosis quística, una infección respiratoria crónica típica de los pacientes con este patógeno. Está caracterizada por inflamación de las vías aéreas, alteración de la producción de mucus y disminución del aclaramiento ciliar. Es una enfermedad que tiende a aparecer de forma repetida, acelerando la disminución de la función pulmonar y facilitando la aparición de infecciones como son las neumonías (Martínez, 2015, p. 11).

Según la autora Burguillos (2018), menciona que las neumonías son infecciones en el tracto respiratorio inferior que cursan con inflamación de los espacios alveolares, lo que impide el correcto funcionamiento de los pulmones. La neumonía nosocomial se adquiere a

través de tres mecanismos: aspiración, inhalación de aerosoles y la diseminación hematológica a partir de otro foco de sepsis, siendo la más importante la micro aspiración de bacterias. La implicación de *P. aeruginosa* es muy frecuente en este tipo de infecciones asociadas al ámbito hospitalario. De igual manera las neumonías nosocomiales pueden clasificarse en función de la gravedad (“grave” o “no grave”), del momento de aparición (precoz o tardía) y de los factores de riesgo asociados (utilización previa de antibióticos, fallos de tratamientos previos). Las más frecuentemente producidas por *P. aeruginosa* son las neumonías tardías asociadas a factores de riesgo en pacientes ventilados y neumonías graves (p. 11).

Pseudo-monas aeruginosa se caracteriza por una notable resistencia intrínseca a los antibióticos, mediada principalmente por la expresión de  $\beta$ -lactamasas cromosómicas inducibles y la producción de bombas de flujo de salida, constitutivas o inducibles. Además, de esta resistencia intrínseca, *P. aeruginosa* posee una capacidad extraordinaria para desarrollar resistencia a casi todos los antimicrobianos disponibles mediante la selección de mutaciones. El aumento progresivo de las tasas de resistencia en *P. aeruginosa* ha dado lugar a la aparición de cepas que, en función de su grado de resistencia a los antibióticos comunes, se han definido como cepas resistentes a múltiples fármacos (MDR), resistentes a los extendidos (XDR) y panresistentes (PDR) (Mensa *et al.*, 2018, p. 1).

Según los autores Mensa *et al.*, (2018), señalan desde el punto de vista clínico que las infecciones causadas por *P. aeruginosa* se pueden clasificar como: 1) infecciones agudas superficiales, no invasivas, en pacientes inmunocompetentes, 2) infecciones invasivas agudas en pacientes con comorbilidades o inmunodepresión significativas, y 3) infecciones crónicas. El primer grupo incluye las siguientes entidades: otitis externa (oído de nadador), pericondritis, queratitis asociada con el uso de lentes de contacto, foliculitis asociada a hidromasaje, paroniquia (síndrome de la uña verde), hidradenitis palmoplantar, osteomielitis de huesos del pie (secundaria a heridas punzantes por objetos que penetran en el calzado deportivo) e intertrigo interdigital. Los inóculos podrían ser auto-limitados o responder al tratamiento con cipro-floxacin tópico u oral (pp. 4-5).

Continuando con la clasificación del autor Mensa *et al.*, (2018). El segundo grupo incluye bacteriemias, neumonías nosocomiales o VAP, endocarditis en usuarios de drogas

parenterales, infecciones por marca-pasos, entero-colitis necrotizante en el paciente neutropénico, meningitis pos-quirúrgica, infección por derivación del líquido cefalorraquídeo, fascitis necrotizante, ectima gangrenosa, peritonitis terciaria o peritonitis asociada con diálisis peritoneal ambulatoria, otitis externa maligna, central infección por catéter venoso, infección por quemaduras e infección del tracto urinario (pielonefritis o prostatitis) en pacientes con catéteres vesicales y finalmente el en el tercer grupo, se incluyen las infecciones crónicas. Por lo general, los aislamientos de *P. aeruginosa* de pacientes con fibrosis quística producen un poli-sacárido extracelular, alginato, que confiere colonias de tipo mucoide. El mismo fenotipo se pudo observar en infecciones bronquiales en pacientes con bronquiectasias, EPOC avanzada (GOLD IV) o panbronquiolitis. Sin embargo, el crecimiento dentro de las biopelículas dificulta su erradicación, y en etapas avanzadas no es posible con los tratamientos actuales (p. 5).

### **Tratamiento**

Las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* no se suelen tratarse con un solo fármaco debido a que el índice de mono-terapia es bajo y las bacterias generan gran resistencia. Se usa una penicilina de amplio espectro, como lo es piperacilina en combinación con un amino-glucósido (tobramicina) o carbapenémicos (imipenem y meropenem), fluoroquinolonas que abarca la cipro-floxacina, de las cefalosporinas ceftazidima, cefepima. La ceftazidima suele utilizarse con un aminoglucósidos en el tratamiento primario (Jawetz, Melnick & Adelberg (2016), p. 247).

Según el autor Martínez (2015) en su trabajo final de grado menciona, la Guía Terapéutica Antimicrobiana “Mensa”, el tratamiento frente a *Pseudomonas aeruginosa* ha de llevarse a cabo con ceftazidima, cefepima (cefalosporinas,  $\beta$ -lactámicos), imipenem, meropenem, doripenem (carbapenems,  $\beta$ -lactámicos), aztreonam (monobactama), ciprofloxacino (fluoroquinolona), tobramicina y amikacina (aminoglucósidos) o colisitina (polipéptido tensoactivo). Los  $\beta$ -lactámicos y monobactamas inhiben la síntesis de peptidoglucano, inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana (24, 25, 26); el cipro-floxacino inhibe a la topoisomerasa IV y al ADN girasa, inhibiendo la replicación y transcripción del ADN; los amino-glucósidos impiden la trans-cripción del ADN, impidiendo la síntesis

proteica; y la colistina interacciona con los fosfolípidos, alterando la permeabilidad de la membrana bacteriana (p. 17).

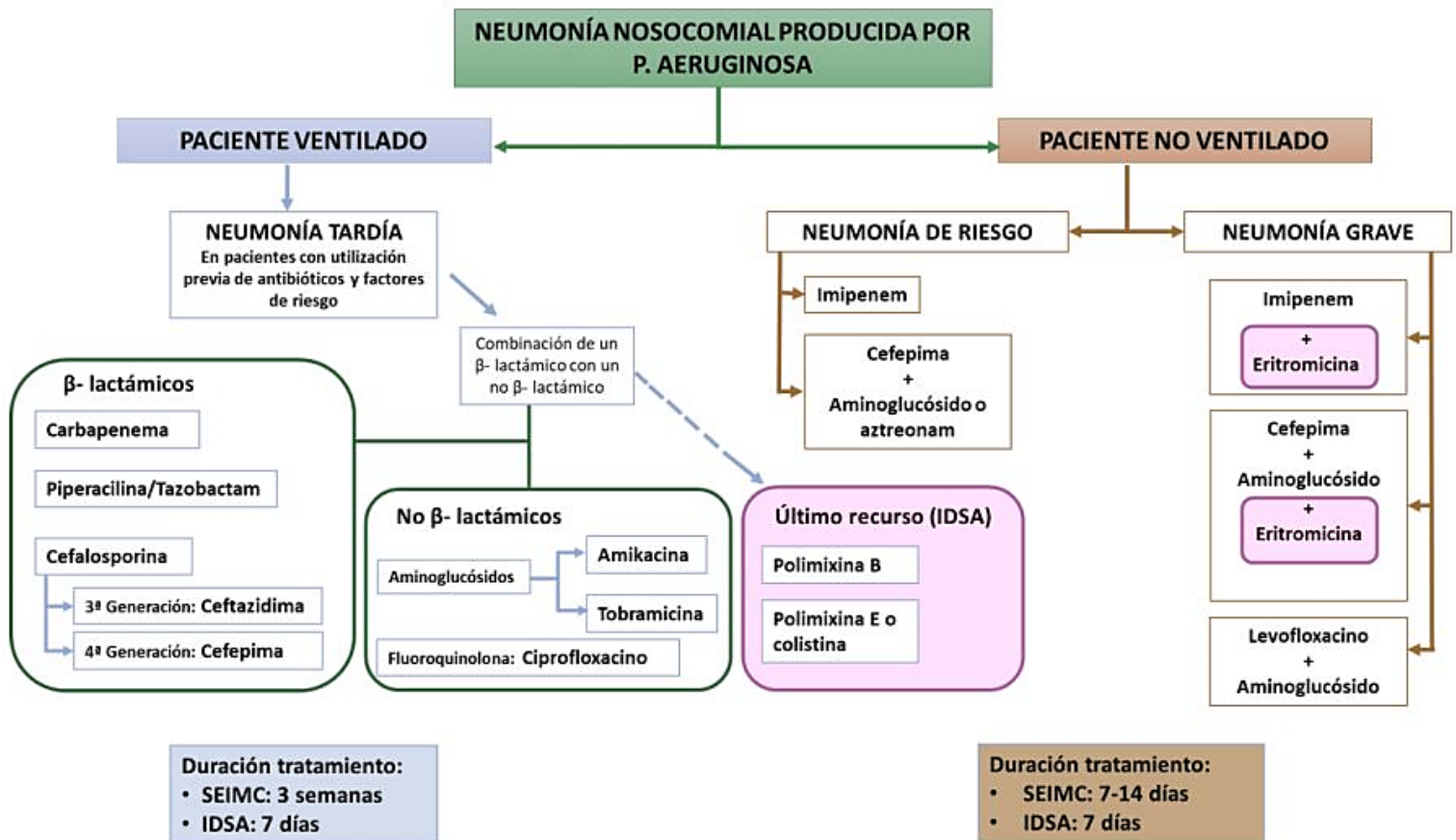
En las bacteriemias se recomienda el uso de un  $\beta$ -lactámico en perfusión continua (doripenem es el más activo) con amikacina o ciprofloxacino. En infecciones respiratorias, aminoglucósidos, aztreonam o colistina inhalados. En las urinarias, ciprofloxacino. Además, el uso de un  $\beta$ -lactámico con azitromicina es útil en las cepas formadores de biofilms, que son la mayoría, la combinación de imipenem/ciprofloxacino con ertapenem en cepas no resistentes, consiguiéndose un aumento de la susceptibilidad a los dos primeros, debido a que el uso combinado disminuye su utilización y retrasa la aparición de resistencias. También, el empleo de oligómeros de alginato junto con azitromicina, ceftazidima, ciprofloxacino, aztreonam y primaxina potencia el efecto de éstos y aumentan su eficacia en el tratamiento de las cepas MDR (Martínez, 2015, p. 18).

Según la autora Burguillos (2018) menciona una relación directa con el artículo de referencia de la SEIMC (Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas) publicada en 2006, que propone un esquema de tratamiento para la neumonía obsoleta y se observan discrepancias con las propuestas más recientes, como la de la IDSA (Infectious Disease Society of America), publicada en 2016. En el caso de la neumonía asociada a ventilación mecánica, el cambio más destacable es la introducción de las polimixinas en la terapéutica (colistina y polimixina B), aunque solo en el caso de que no exista otra alternativa (al igual que ocurre con los aminoglucósidos). Por otro lado, la IDSA recomienda un tratamiento similar para neumonías no asociadas a ventilación mecánica, es decir, administración de dos fármacos en los casos de alto riesgo, siendo uno un  $\beta$ lactámico y el otro una fluoroquinolona o un aminoglucósido, aunque no indica la utilización de polimixinas como antibióticos de último recurso. Además, se eliminan los macrólidos (eritromicina) del tratamiento de neumonías graves (pp. 11, 13).

El inicio precoz del tratamiento es un factor a tener en cuenta en la evolución del paciente, por lo que se recomienda la administración de antibióticos desde el momento en el que se sospecha de un diagnóstico de neumonía. Para la identificación del patógeno se deben obtener muestras del tracto respiratorio inferior para la realización de cultivos y antibiogramas. La tinción de Gram de las secreciones del tracto respiratorio inferior puede

ser muy útil, ya que proporciona información inmediata que ayuda a orientar el diagnóstico y el tratamiento antibiótico inicial. Una vez identificado el patógeno causante de la infección será el momento de comenzar con la terapia dirigida, eligiendo el antibiótico en función de los resultados del antibio-grama (Burguillos, 2018, p. 11).

Figura 17. Algoritmo de tratamiento de neumonía nosocomial producida por *P. aeruginosa* en pacientes con o sin ventilación mecánica.



Fuente: Burguillos, 2018, p. 12

De igual manera la autora Burguillos (2018), señala que, debido a la falta de medicamentos en desarrollo, se están rescatando antibióticos que habían sido utilizados previamente y descartados debido a sus reacciones adversas, se presentan algunos ejemplos de estos (p. 18).

Colistina o polimixina E, un polipéptido catiónico cíclico ramificado que se inserta en la membrana bacteriana, alterando su permeabilidad. A pesar de ser un antibiótico de amplio espectro frente a bacterias Gram negativas, su uso está restringido debido a los

problemas de toxicidad que se le asocian (nefrotoxicidad, neurotoxicidad, etc.), por lo que es un antibiótico de último recurso frente a bacterias Gram negativas resistentes.

Fosfomicina, un antibiótico de amplio espectro cuyo mecanismo de acción radica en la inhibición de la síntesis de la pared celular por inactivación de la enzima fosfoenolpiruvato transferasa. Se ha observado que presenta una buena efectividad frente a cepas multi-resistentes de *P. aeruginosa*.

Rifampicina, antibiótico de primera línea en el tratamiento de la tuberculosis cuyo mecanismo de acción se basa en la inhibición del a RNA-polimerasa. Se ha observado que su combinación con colistina y meropenem tiene efectos sinérgicos frente a cepas multi-resistentes de *Pseudomonas spp.* Sin embargo, antes de su uso en la clínica se deben realizar estudios que determinen su eficacia clínica y datos de supervivencia, ya que los que existen no son suficientes.

Finalmente, la autora Burguillos (2018), menciona que en España son frecuentes las infecciones producidas por cepas de *P. aeruginosa* multiresistente. Ya ha sido aprobado el uso de dos combinaciones novedosas de cefalosporinas con inhibidores de  $\beta$ -lactamasas para el tratamiento de infecciones intra-abdominales complicadas (junto a metronidazol), infecciones del tracto urinario complicadas y pielonefritis agudas (pp. 18-19).

Ceftolozano/tazobactam (Zerbaxa®): El ceftolozano es una cefalosporina antipseudomonas que presenta buena actividad frente a *P. aeruginosa* ya que no se ve afectado por los principales mecanismos de resistencia de este patógeno, siendo estable en presencia de  $\beta$ -lactamasas AmpC y no viéndose afectado por la pérdida de porinas OprD ni por la presencia de bombas de eflujo. Por otro lado, el tazobactam es un inhibidor de  $\beta$ -lactamasas, incluyendo enzimas de amplio espectro y de espectro extendido de betalactamasas (BLEE), pero no enzimas tipo metalo-  $\beta$ lactamasas.

Ceftazidima/avibactam (Avycaz® o Zavicefta®): Además de la indicación descrita anteriormente, su utilización también está recomendada en neumonías de origen nosocomial. La ceftazidima es una cefalosporina antipseudomonas de tercera generación cuya hidrólisis se evita con la asociación con avivactam. El avibactam es un nuevo inhibidor de  $\beta$ -lactamasas con buena actividad frente a AmpC, pero limitada en el caso de

las metalo- $\beta$ -lactamasas. Debido a que los datos de eficacia son escasos, esta combinación se suele restringir para pacientes con los que se han utilizado todas las alternativas posibles.

Según los autores Mensa *et al.*, (2018). Mencionan los antibióticos que son activos con cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

“Los  $\beta$ -lactámicos que muestran menores tasas de resistencia son: piperacilina-tazobactam, ceftazidima, cefepima, aztreonam, imipenem o meropenem son  $\geq 20\%$ . El ceftolozano-tazobactam es activo contra casi el 95% de los aislados y la asociación ceftazidima-avibactam restablece la susceptibilidad a la ceftazidima en cepas resistentes de casi el 80%. Con la excepción de imipenem, poco estable a temperatura ambiente, todos los demás  $\beta$ -lactámicos activos contra *P. aeruginosa* debe administrarse a dosis altas y usando infusión continua o prolongada después de una dosis de carga inicial. Esta recomendación se basa en: su actividad bactericida dependiente del tiempo, el posible efecto de inóculo de una carga bacteriana alta” (p. 15).

La tobramicina es el aminoglucósido que muestra la mayor actividad intrínseca contra *P. aeruginosa*, siendo dos veces más activa que la gentamicina y de 3 a 4 veces más que la amikacina. Sin embargo, la amikacina es susceptible de inactivación por un menor número de enzimas, por lo que es activa contra un mayor porcentaje de aislados de *P. aeruginosa* (90-95%) en comparación con la tobramicina (80%). Los aminoglucósidos, debido a su naturaleza hidrofílica, se distribuyen en el espacio intersticial y se eliminan por vía renal. El aumento en Vd (volumen de distribución) y en el aclaramiento renal, observado en pacientes críticos con una respuesta inflamatoria sistémica importante, reduce significativamente la concentración de aminoglucósidos en suero después de la primera dosis. La dosis recomendada en las primeras 48-72 h de tratamiento, en pacientes con función renal normal y *P. aeruginosa* grave infección, es de hasta 8 mg / kg para gentamicina o tobramicina y de 20-30 mg / kg para amikacina (Mensa *et al.*, 2018, p. 16).

La combinación de un aminoglucósido y un  $\beta$ -lactámico podría ser sinérgica *in vitro* contra bacilos gram-negativos mediante el aumento de la permeabilidad de la membrana externa. La tasa de resistencia actual para las fluoroquiolonas como: la ciprofloxacina y la levofloxacina en *P. aeruginosa*, en la mayoría de los hospitales españoles, supera el 30%. Sin embargo, el efecto bactericida de las fluoroquiolonas es más lento que el

de los amino-glucósidos y la lisis de mutantes resistentes requiere exposiciones más prolongadas. La asociación de ceftazidima o cefepima con una fluoroquinolona (ciprofloxacina, levofloxacina o moxifloxacina) a concentraciones de 0,5 x MIC fue sinérgica para más del 50% de cepas de *P. aeruginosa* (Mensa *et al.*, 2018, p. 17).

Colistina alrededor del 98% de las cepas de *P. aeruginosa* son susceptibles a la colistina con MIC de 0.5-1 mg / L. La colistina no debe usarse como monoterapia, especialmente si el MIC es > 1 mg / L, la carga bacteriana es alta o en el caso de focos de bajo acceso (pulmón, SNC). La asociación con una  $\beta$ -lactama (cefazidima o meropenem), una fluoroquinolona (cipro-floxacina o levo-floxacina) o rifampicina puede ejercer efectos sinérgicos, se recomienda comenzar el tratamiento con una dosis de carga intra-venosa de 6-9 MU para evitar el retraso de 48-72 horas necesario para alcanzar el estado estacionario (Mensa *et al.*, 2018, p. 17).

La fosfomicina es efectiva contra casi el 33% de las cepas de *P. aeruginosa*, la MIC de fosfomicina es  $\leq 64$  mg / L. Su actividad bacteriostática dependiente del tiempo está muy influenciada por el tamaño del inóculo. La asociación con tobramicina, amikacina y ciprofloxacina disminuye la aparición de resistencias y mejora la sinergia de los tratamientos. Además, el tratamiento empírico para el tratamiento de infecciones causadas por *Pseudomonas aeruginosa*, se debe utilizar un tratamiento con un  $\beta$ -lactámico diferente al recibido en los últimos 90 días. Por orden, se debe dar preferencia a 1.5-3 g / 8 h IV de ceftolozano-tazobactam IV, 2 g / 8 h IV de meropenem y 2 g / 8 h IV de ceftazidima o 4.5 g / 6 h IV de piperacilina-tazobactam. Deben administrarse como infusión prolongada (ceftolozano-tazobactam, meropenem) o infusión continua con una dosis de carga (ceftazidima, piperacilina-tazobactam), junto con un segundo antibiótico como 25 mg / kg / día IV de amikacina como dosis única diaria o colistina (dosis de carga de 6-9 MU IV seguido de 4.5 MU / 12 h IV) (Mensa *et al.*, 2018, pp. 17-18).

## **Fisiología bacteriana**

Según el autor Merino (2017), menciona que las bacterias son capaces de realizar una serie de transformaciones químicas mediante reacciones enzimáticas que se traducen en síntesis de nuevos productos, transporte, movimiento y duplicación celular. Se considera crecimiento bacteriano al aumento ordenado de todos los componentes celulares con el consiguiente aumento del número de células bacterianas, o sea que el resultado final del crecimiento bacteriano es la duplicación celular. El crecimiento bacteriano se inicia con la captación de nutrientes a partir del medio ambiente y los pasos intermedios entre la captación de nutrientes y la división celular constituyen el metabolismo bacteriano. El metabolismo bacteriano está compuesto de dos etapas: una de síntesis o Anabolismo y una de destrucción o Catabolismo (p. 1).

Aunque muchas bacterias sólo requieren adicionalmente algunas moléculas simples para crecer (aminoácidos y azúcares), son consideradas nutricionalmente no exigentes (*Pseudomonas*, *Escherichia*, *Staphylococcus*), existen otras consideradas nutricionalmente exigentes que requieren además compuestos más complejos como vitaminas y cofactores para poder desarrollar (*Haemophilus*, *Neisseria*). Ciertas bacterias son incapaces de producir y almacenar su propia energía por lo que deben tomarla a partir de la célula que se encuentran infectando y se denominan bacterias energéticamente exigentes (*Chlamydias* y *Rickettsias*). Los dos primeros grupos mencionados son capaces de desarrollar en medios fabricados artificialmente en el laboratorio (*in vitro*) mientras que el último grupo sólo desarrolla en medios de cultivos que contengan células vivas (Merino, 2017, p. 2).

El autor Merino *et al.*, (2017), menciona la clasificación de las bacterias en función de los requerimientos de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>

“Bacterias aerobios estrictas: necesitan una concentración de alrededor del 21% de oxígeno para poder desarrollar (*Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Corynebacterium*).

Bacterias microaerófilas: sólo necesitan alrededor de un 5% de oxígeno para desarrollar. Mayores concentraciones inhiben su desarrollo (*Campylobacter*, *Helicobacter*).

Bacterias anaerobios obligadas o estrictas: son incapaces de sobrevivir en presencia de oxígeno, es decir requieren un 0% de oxígeno (*Fusobacterium*, *Clostridium*).

Bacterias anaerobias aero-tolerantes: pueden sobrevivir, aunque no crecer, en presencia de hasta un 0,5% de oxígeno (*Actinomyces*, *Propionibacterium*).

Bacterias anaerobias facultativas: son capaces de crecer en una atmósfera tanto con o sin oxígeno (*Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae*).

Bacterias capnófilas: son bacterias aerobias que necesitan además para crecer un 5-10% de CO<sub>2</sub>. (*Neisseria*, *Haemophilus*)” (p. 3).

Como el autor Struthers (2018) en el libro microbiología clínica menciona:

“Las bacterias funcionan a través de diferentes vías bioquímicas complejas e interactivas. La energía para realizar estas vías la proporciona una fuente de carbono como la glucosa. Las bacterias se pueden clasificar en aerobias, donde el oxígeno es esencial para el crecimiento (p. ej; *Pseudomonas aeruginosa*); facultativas, donde los micro-organismos pueden crecer en presencia o ausencia de oxígeno (p. ej; coliformes Gram negativos) y anaerobias, donde las bacterias crecen en ausencia de oxígeno. Cuando las aerobias como *Pseudomonas aeruginosa* crecen en presencia de oxígeno, la glucosa se metaboliza por completo mediante la respiración aeróbica” (p. 24).



Cuando los coliformes crecen en ausencia de oxígeno, metabolizan la glucosa mediante un proceso de fermentación menos eficiente donde los ácidos mixtos son los productos finales. El modo de metabolismo de los organismos facultativos va ser influenciado por la acción de algunos antibióticos. Los amino-glucósidos, como la gentamicina actúa sobre los coliformes que crecen en la presencia de oxígeno ya que el

antibiótico ingresa a la célula mediante un proceso dependiente de la energía que es la respiración aeróbica (Struthers, 2018, p. 25).

Según los autores Berlanga y Guerrero (2017), mencionan los procariotas presentan una enorme diversidad metabólica, que les permite ocupar los nichos ecológicos más diversos imaginables. Los procariotas son capaces de utilizar una amplia gama de sustancias reducidas (orgánicas e inorgánicas) y de agentes oxidadores para generar gradientes electroquímicos y producir energía y poder reductor; además del metabolismo fermentador. Los agentes oxidadores son variados, por ejemplo, oxígeno, nitrato, sulfato, Fe (III), As (IV), Se (VI), dependiendo de las condiciones del hábitat” (p. 5).

La apoptosis es diferente del proceso aleatorio de la muerte celular necrótica, ya que elimina las células individuales sin inducir una respuesta inflamatoria. En las bacterias, la apoptosis parece estar determinada por una unidad genética compuesta de dos genes. El segundo gen codifica una toxina estable, y el primer gen codifica una antitoxina lábil que interfiere con la acción letal de la toxina. Este sistema genético toxina-antitoxina (por ejemplo, el sistema mazEF) se ha encontrado en *E. coli* y en otras bacterias, incluyendo varios patógenos (Berlanga & Guerrero, 2017, p. 5).

### **Barreras e Inmunidad**

Los autores Canase & Canase (2012) en el libro Manual de Microbiología y Parasitología médica señalan:

“La inmunidad es la capacidad que tienen los seres vivos de resistir a la agresión de los agentes infecciosos, se clasifican en inmunidad inespecífica y específica. La inmunidad específica o adquirida puede ser activa o pasiva. La activa indica que el organismo produce defensas (anticuerpos y células) por estimulación de un agente infeccioso o antígeno, en la inmunidad adquirida pasiva, anticuerpos formados en otro hospedador son recibidos por el individuo. La gran mayoría de los micro-organismos son frenados antes que el sistema inmune actué debido a las barreras que detienen el paso de estos micro-organismos” (p. 28).

Según los autores Prescott, Harley & Klein (2004) en el libro Microbiología mencionan:

“La supervivencia del huésped en este caso, el ser humano va a depender de una elaborada red de defensas que evitan que micro-organismos y otras sustancias extrañas produzcan daños en el organismo. Un patógeno es un micro-organismo capaz de producir una enfermedad, la patogenicidad es la capacidad de producir dicha enfermedad provocando cambios patológicos, signos, síntomas. El sistema inmunitario es vencido por el patógeno y este se multiplica (infección), pudiendo proceder en cambios patológicos” (p. 786).

El sistema inmunitario del huésped comprende una serie de barreras generales inespecíficas: barreras físicas, químicas, biológicas (inflamación y fiebre). Los tejidos internos de los individuos sanos (cerebro, sangre, fluido cerebro-espinal, músculos) normalmente están libres de micro-organismos por otra parte tejidos superficiales como: piel y mucosas están en contacto permanente con micro-organismos. El conjunto de micro-organismos que se encuentra regularmente en el organismo se conoce como microbiota. En un individuo adulto este está cubierto aproximadamente 2 m<sup>2</sup> de piel, se estima que esta superficie contiene alrededor de 10<sup>12</sup> bacterias (Prescott, Harley y Klein, 2004, p. 788).

La superficie de la piel no es un ambiente favorable para la colonización microbiana, la piel está sometida a una deshidratación periódica, la falta de humedad origina que muchos micro-organismos residentes pasen a un estado latente. Sin embargo, en algunas partes del cuerpo (cuero cabelludo, orejas, axilas, regiones genito-urinarias) la humedad es la suficiente para mantener una microbiota residente. El pH ácido de la piel debido a los ácidos orgánicos producidos por los estafilococos (micro-biota normal) y las secreciones de las glándulas sebáceas y sudoríparas de la piel evita la colonización (Prescott, Harley y Klein, 2004), p. 788).

El sudor contiene una gran concentración de cloruro sódico, esto la convierte en una superficie hiperosmótica lo que estresa osmóticamente a la mayoría de los micro-organismos de igual manera algunas sustancias inhibitorias de la piel controlan la multiplicación excesiva y la infección causada por micro-organismos residentes. Por ejemplo, las glándulas sudoríparas secretan lisozima, enzima que lisa a *Staphylococcus epidermidis*. La continua descamación de las células epiteliales más externas elimina los microorganismos que consiguieron adherirse (Prescott, Harley y Klein, 2004, p. 788).

Cuando los micro-organismos han rebasado las barreras naturales y logran penetrar en la intimidad de los tejidos, el organismo dispone de mecanismos de defensa inespecíficos, que se pone en acción y que se traducen en un proceso inflamatorio. La inflamación presenta cuatro signos: rubor, calor, dolor y tumor. El rubor es debido a la vasodilatación de los capilares sanguíneos de la zona, el calor obedece a la mayor circulación de sangre, el dolor es ocasionado por la liberación de mediadores y la compresión e irritación de los fascículos nerviosos y el tumor es consecuencia del mayor flujo sanguíneo y a la extra-vasación de líquido (Canase & Canase, 2012, p. 29).

Los primeros fagocitos en acceder al foco inflamatorio son los polimorfo nucleares neutrófilos, la llegada de los linfocitos es más tardía, cuando interviene la inmunidad adquirida. Los neutrófilos, predominantes en la sangre tienen vida muy corta, poseen núcleo segmentado y granulaciones azurófilas primarias ricas en mieloperoxidasas, elastasa, catepsina G, defensinas e hidrolasas, además muestran gránulos secundarios específicos conteniendo lactoferrina, lisozima, fosfatasa-alcalina y citocromo. Los macrófagos, están presentes tanto en la sangre como en los tejidos. Son de mayor tamaño que los neutrófilos y tienen una vida más larga que ellos. Poseen un retículo endoplásmico rugoso y numerosas mitocondrias (Canase & Canase, 2012, p. 29).

La inmunidad (inespecífica puede dividirse en dos componentes básicos: los compuestos (moléculas o conjunto de moléculas), como el complemento, los mediadores de la inflamación, las moléculas de adhesión intercelular, las proteínas de fase aguda y los interferones y las células, cuya acción principal está dada por los fagocitos, pero también con acciones importantes de células NK (natural killer), mastocitos, eosinófilos y plaquetas. Estos dos componentes básicos, actúan en forma coordinada y amplificada sobre los micro-organismos patógenos (Canase & Canase, 2012, p. 29).

El sistema inmune inespecífico se encuentra organizado para potenciar su acción desde el momento en que se establece contacto con los micro-organismos agresores. La fagocitosis se ve favorecida por el complemento y este produce anafilotoxinas que reclutan y activan a los fagocitos. Completan la acción inmune, moléculas mediadoras de la

inflamación, los interferones, las células NK, los eosinófilos y proteínas de fase aguda como la PCR (Canase & Canase, 2012, p. 29).

Las inmuno-globulinas o anticuerpos aparecen recién en los vertebrados, siendo la IgM la primera en estar presente en los vertebrados inferiores. A medida que se asciende en la escala filogénica, el orden de aparición de las restantes inmuno-globulinas es IgG, IgA, IgE y por último IgD. La inmunidad específica es desarrollada por dos tipos de linfocitos en el humano: los linfocitos T (timocitos), que tienen a su cargo la inmunidad mediada por células y la coordinación general de la respuesta inmune y los linfocitos B (osteomédulares) que son responsables de la inmunidad humoral, por medio de la síntesis de los anticuerpos (Canase & Canase, 2012, p. 29).

Según Struthers (2018) en su libro *Microbiología Clínica* menciona:

“Un macrófago bajo estrés debe ser sometido a muerte celular programa o apoptosis, este es el proceso por el que el cuerpo elimina las células que han hecho su trabajo o están bajo estrés externo o interno. La apoptosis es altamente regulada y controlada y dirige la síntesis de proteínas celulares cuya función es perforar la membrana externa de las mito-condrias liberando citocromo C, esto desencadena la activación de caspasas que degradan todos los tipos de proteínas dentro de la célula, se forma un apoptosoma de la célula lo cual permite la compartimentalización segura de todos los restos celulares, que son fagocitados por macrófagos vecinos” (p. 47).

Según la autora Toure (2018), menciona que el organismo humano, de forma general, se opone a la penetración y establecimiento de los organismos patógenos exteriores mediante una serie de barreras cuyo fin es el mantenimiento de la salud del individuo. La primera de las barreras es la inmunidad innata, nativa o natural, cuyo primer nivel de protección está constituido por barreras físicas, como químicas. El segundo nivel lo forma la inmunidad innata inducida, en esta fase entran en juego moléculas y células, que, mediante un proceso inflamatorio, logran en la mayoría de los casos, controlar, de forma inespecífica, a los agentes patógenos (p. 5).

Ambos sistemas defensivos actúan de manera coordinada y secuencial, comunicándose entre sí, mediante citoquinas. El sistema del complemento forma parte de la inmunidad innata, consta de más de 30 proteínas solubles (producidas principalmente en el hígado), unidas a células que actúan como una cascada. Existen 3 vías de activación del complemento. La primera que se descubrió fue la de los complejos antígeno/anticuerpo, y, por tanto, fue denominada vía clásica. La siguiente vía en descubrirse fue la alternativa, la cual podía activarse sólo con la presencia del patógeno. Por último, la más reciente es la vía de las lectinas, la cual se activa gracias a la unión de proteínas del tipo lectina que se unen y reconocen carbohidratos presentes en la superficie de los patógenos (Toure, 2018, pp. 5, 7).

Según los autores Marín *et al.* (2019), menciona

“Que a lo largo de la evolución los sistemas fisiológicos en el ser humano y en los animales han ido adaptándose. Actualmente, los vastos estudios han determinado que en realidad el sistema inmunológico distingue lo “inocuo” de lo “nocivo”. Para desarrollar esta prominente labor, el sistema inmunológico comprende una serie de componentes tales como: órganos, tejidos, células y moléculas, que al mismo tiempo pueden realizar actividades independientes para regular la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa” (pp. 1-2).

El éxito del funcionamiento del sistema inmunológico se debe a una acertada participación de las moléculas encargadas de la comunicación celular denominadas citoquinas. Estas inician la activación o la inhibición de procesos biológicos que desencadenan mecanismos de defensa para la erradicación de patógenos, y agentes extraños o infecciosos. Las citoquinas (citocinas) son proteínas secretadas por células que actúan como un sistema de señales entre las células, permitiendo una respuesta inmune integrada, regulando importantes funciones biológicas, tales como proliferación, activación, supervivencia, muerte y diferenciación celular (Marín *et al.*, 2019, p. 2).

Los autores Marín *et al.*, (2019), mencionan, un grupo particular de citoquinas son los interferones (IFN), inicialmente descritas por Isaacs y Lindenmann en 1957 por su capacidad de interferir con la replicación del virus de la gripe. Posteriormente, los IFN fueron descritos en importantes procesos, como la proliferación, diferenciación y muerte celular. Los IFN son un grupo de proteínas que se clasifican en familias, tales como los IFN

tipo I (IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ , entre otros), los IFN tipo II (IFN $\gamma$ ) y los IFN tipo III (IFN $\lambda$ 1, IFN $\lambda$ 2, IFN $\lambda$ 3, e IFN $\lambda$ 4).

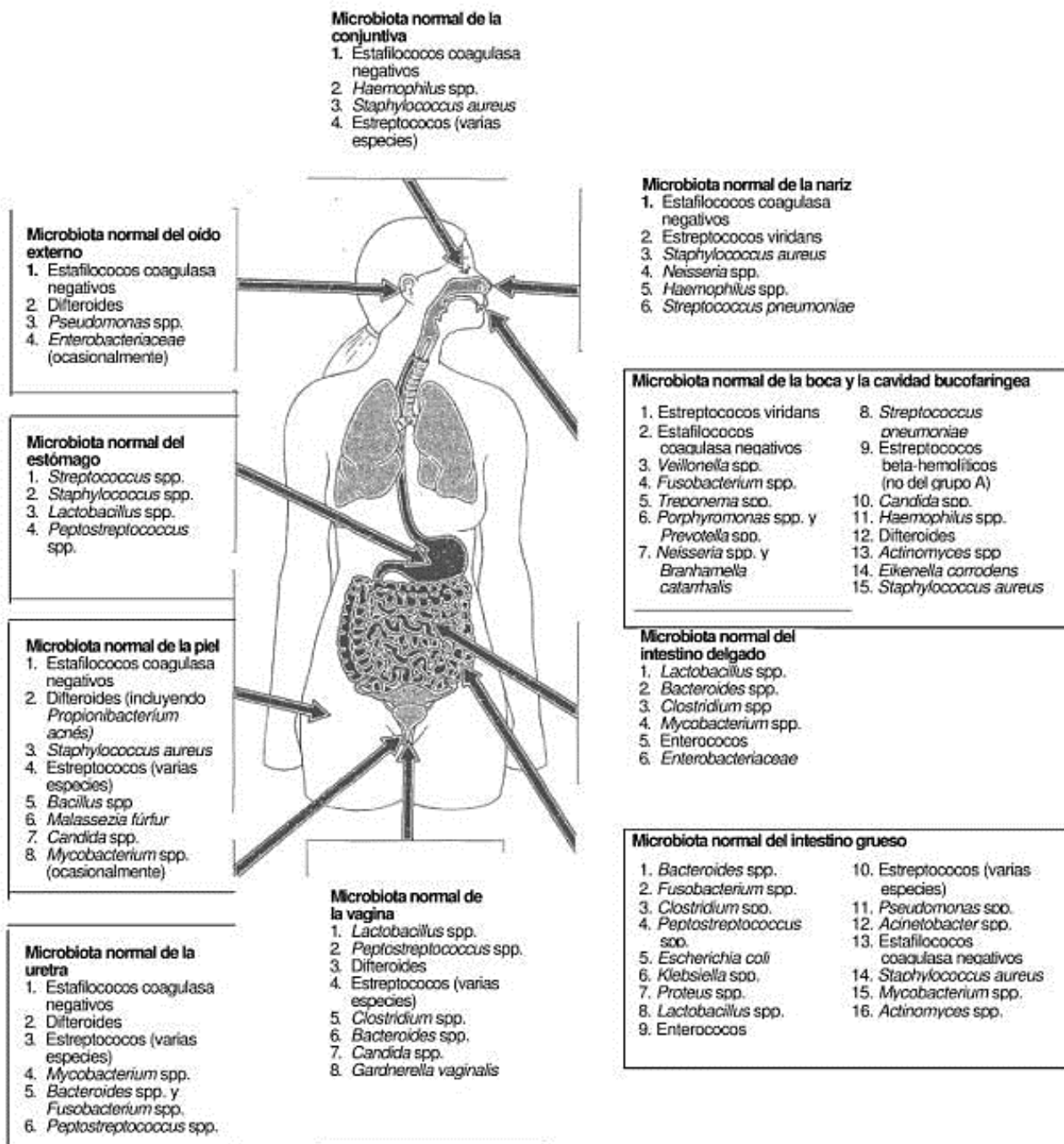
Los IFN tipo I ( $\alpha$  y  $\beta$ ) son producidos en respuesta a la infección viral y se producen en una variedad de células, principalmente en las células dendríticas plasmocitoides. La inducción de la transcripción de estos genes (IFN  $\alpha$  e IFN  $\beta$ ) es un evento central en la inmunidad innata. Los IFN tipo I ejercen sus efectos mediante la activación de la vía de señalización JAK/STAT (Janus Kinase/Signal Transducers and Activators of Transcription). El control fino del sistema de señalización del interferón es esencial para la regulación de la inmunidad innata y adaptativa, ya que las células T CD4+ (Linfocitos T cooperadores), células T CD8+ (linfocitos T citotóxicos), células dendríticas y macrófagos pueden ser activados por factores quimiotácticos, moléculas de complejo mayor de histo-compatibilidad (MHC), citoquinas (Marín *et al.* 2019, p. 3).

Los IFN tipo I ejercen diferentes actividades biológicas, tales como anti-virales, antiproliferativas, pro-apoptóticas y efectos inmuno-reguladores. Los IFN tipo I interfieren con la infección por virus ARN y ADN. En los seres humanos, IFN $\alpha$ 2 fue probado inicialmente para tratar la hepatitis C crónica, que resultó en una respuesta virológica sostenida y curativa en hasta el 20% de los pacientes. El tratamiento actual de hepatitis C crónica es realizado mediante un IFN $\alpha$ 2 PEG-ilado (conjugado covalente formado por la unión de interferón al polímero polietilenglicol) más un inhibidor de nucleósido (ribavirina), el cual cura hasta el 60% de los pacientes (Marín *et al.*, 2019, p. 3).

Según los autores Marín *et al.*, (2019), menciona, la familia de interferones tipo III (IFN $\lambda$ ) fue descrita por primera vez en el año 2003 incluyendo los subtipos IFN $\lambda$ 1 (IL-29), IFN $\lambda$ 2 (IL-28A), e IFN $\lambda$ 3 (IL-28B) y en el 2013 fue descrito el subtipo IFN $\lambda$ 4. Estos IFN tipo III son producidos por células nucleadas después de la infección viral. Los polimorfismos de nucleótido únicos (SNPs) en el gen IFNL3 (IL-28B) se asociaron con la eliminación espontánea del virus de Hepatitis C (VHC). Estos SNPs se expresan de forma aleatoria según la etnia, pero se asociaron con una mayor protección en las personas de ascendencia africana en relación con ascendencia europea. Asimismo, otro artículo mencionando por los autores Marín *et al.*, (2019), expusieron que el IFN $\lambda$ 4 recombinante posee una fuerte actividad antiviral contra la infección por VHC en líneas celulares de

hepatocitos humanos, Huh7 y HepG2, en las vías respiratorias y las células epiteliales humanas después de la infección por coronavirus (p. 5).

Figura 18. Micro-biota normal del ser humano



Fuente: (Prescott, Harley, Klein, 2004, p.789).

### **Relación entre la micro-biota normal y el huésped**

Según los autores Prescott, Harley & Klein (2004) en el libro Microbiología mencionan:

“Esta interacción entre el huésped y un micr-organismo es un proceso dinámico en el cada una de las partes actúa para optimizar su propia supervivencia, en algunos casos, tras la entrada de un micro-organismo con el huésped, se establece una relación mutuamente beneficiosa que puede llegar a ser integral para la salud del huésped. Este tipo de micro-organismo se establece como microbiota. En otros casos micro-organismos inducen efectos deletéreos en el huésped, el resultado final puede ser enfermedad o incluso muerte” (p. 793).

Nuestro entorno está repleto de micro-organismos, por lo que el contacto con ellos es frecuente algunos de estos micro-organismos son patógenos, sim embargo, nuestra micro-biota puede competir con estos patógenos evitando que se produzca la enfermedad. La competición se establece porque la microbiota normal ocupa espacios, recursos, nutrientes e incluso producen compuestos químicos que repelen al patógeno invasor, por ejemplo, los lactobacilos del tracto genital femenino mantienen un pH ácido e inhiben la colonización por bacterias patógenas y las corinebacterias producen en la piel ácidos grasos que inhiben igualmente la colonización de bacterias patógenas (Prescott, Harley y Klein, 2004, p. 793).

A pesar de que la microbiota normal ofrece protección frente a micro-organismos patógenos invasores, también puede llegar a ser patogénica y producir enfermedades, denominados micro-organismos patógenos oportunistas los cuales están adaptados a un modelo de vida no invasivo definido por las condiciones del entorno en el que habitan. Fuera de ese entorno restrictivo e introducidas, por ejemplo, en el torrente sanguíneo o en los tejidos pueden multiplicarse (infección) y de causar la enfermedad. *Streptococos* del grupo viridans son el grupo más común de bacterias que reside en el tracto respiratorio superior, si pasa a sangre (tras una extracción dental, amigdalotomía) puede colonizar válvulas cardíacas y producir una endo-carditis (Prescott, Harley y Klein, 2004, p. 793).

Según la autora Lizarbe (2009), menciona:

“El beneficio de los micro-organismos se extiende a numerosos aspectos de la actividad humana participan o desarrollan procesos valiosos para la sociedad en agricultura, alimentación, energía y medio ambiente, biotecnología. Ciertas bacterias producen antibióticos, como la actinobacteria *Streptomyces griseus* productora de la estreptomicina, otras participan en la elaboración de la mayoría de quesos, como las bacterias *Lactococcus*, *Lactobacillus* o *Streptococcus*, o en la producción del yogur, donde se utiliza *Lactobacillus acidophilus*. Si se considera el micro-ambiente diverso del tracto intestinal, se ha descrito que la comunidad microbiana la constituyen alrededor de 500 especies de bacterias” (p. 2).

Entre éstas están los probióticos, hay evidencias de que pueden prevenir enfermedades como la diarrea asociada a los antibióticos, el síndrome de intestino irritable y la enfermedad inflamatoria intestinal. Un ejemplo es el *Lactobacillus acidophilus* que, además de producir ácido fólico y vitamina B6, degrada nutrientes que otros micro-organismos necesitan: produce ácido láctico, peróxido de hidrógeno lo cual genera un medio hostil para otros organismos indeseables. Otro caso es la bacteria *Escherichia coli*, que ha sido y es utilizada como modelo y material biológico en diversas áreas de investigación (Genética, Biología Molecular, Bioquímica y Biotecnología). Se encuentra en el intestino de los animales y actúa como comensal formando parte de la flora intestinal; estas bacterias son necesarias para el funcionamiento correcto de la digestión y ayudan a la absorción de nutrientes (Lizarbe, 2009, p. 2).

### **Anti-bioticoterapia**

Según la autora Lizarbe (2009) en la revista, bacterias y virus ¿Cómo nos defendemos? menciona:

“El término antibiótico, del griego “anti” (en contra) y “biotikos” (dado a la vida), fue propuesto en 1942 por Selman A. Waksman, descubridor de la estreptomicina y considerado el padre de los antibióticos. Los define como “aquellas sustancias químicas producidas por micro-organismos que, a bajas concentraciones, inhiben el desarrollo o destruyen la vida de otros

microorganismos”. En términos estrictos, un antibiótico es una sustancia secretada por un micro-organismo, u obtenida por síntesis química, que tiene la capacidad de afectar a otros micro-organismos” (p. 21).

Los antibióticos pueden actuar como agentes bactericidas, produciendo la muerte de las bacterias, o pueden funcionar como agentes bacteriostáticos, inhibiendo su crecimiento y multiplicación para ser posteriormente eliminadas por los sistemas de defensa de nuestro organismo. Estos efectos dependen de la concentración del antibiótico en el sitio de la infección, del tipo de bacterias sobre las que actúan, de la fase de crecimiento en la que se encuentran las bacterias y de la densidad de la población bacteriana (Lizarbe, 2009, p. 22).

Según los autores Brunton, Lazo & Parker (2007) en el libro Bases Farmacológicas de la Terapéutica mencionan:

“Los antibióticos son los fármacos de uso más frecuente y erróneamente usados. La consecuencia inevitable de la aplicación tan extendida de los antibióticos ha sido el surgimiento de micro-organismos resistentes, lo que obliga a crear fármacos nuevos. Sin embargo, la velocidad con que se elaboran antibióticos nuevos se ha reducido en forma dramática y cada año se introducen a la práctica clínica contados medicamentos nuevos, muy pocos de los cuales son originales. Se piensa que la mejor forma de reducir la resistencia es disminuyendo el uso incorrecto de los antibióticos” (p. 1122).

Los antibióticos se clasifican con base en su estructura química y mecanismo de acción de la manera siguiente: 1) sustancias que inhiben la síntesis de las paredes celulares bacterianas, como lactámicos  $\beta$  (por ejemplo, penicilinas, cefalosporinas y carbapenem) y otros medicamentos como cicloserina, vancomicina y bacitracina; 2) sustancias que actúan directamente en la membrana celular del microorganismo, aumentando la permeabilidad y provocando la salida de compuestos intracelulares, como detergentes del tipo de la polimixina; antimicóticos de tipo polieno (por ejemplo, nistatina y anfotericina B) que se adhieren a los esteroides de la pared celular y el lipopéptido daptomicina (Brunton, Lazo y Parker, 2007, p. 1123).

3) sustancias que alteran la función de las sub-unidades ribosómicas 30S o 50S para inhibir en forma reversible la síntesis de proteínas, que suelen ser bacteriostáticos (p. ej., cloranfenicol, tetraciclinas, eritromicina, clindamicina, estreptograminas y linezólido); 4) sustancias que se adhieren a la sub-unidad ribosómica 30S y alteran la síntesis de proteínas, que suelen ser bactericidas (por ejemplo, amino-glucósidos); 5) sustancias que modifican el metabolismo del ácido nucleico bacteriano, como rifamicinas (por ejemplo, rifampicina y rifabutina), que inhiben a la polimerasa de RNA y las quinolonas, que inhiben las topoisomerasas, y 6) los antimetabolitos, como trimetoprim y las sulfonamidas, que bloquean a ciertas enzimas esenciales del metabolismo del folato (Brunton, Lazo y Parker, 2007, p. 1123).

Los antibióticos del grupo de los  $\beta$ -lactámicos, como la penicilina, son derivados del ácido 6 amino-penicilánico, difiriendo entre sí según la sustitución en la cadena lateral de su grupo amino, existen una gran variedad de penicilinas que difieren químicamente entre sí en función de la cadena lateral anclada al grupo amino del ácido 6-aminopenicilánico y según su espectro de acción. Por ejemplo, la bencilpenicilina es eficaz contra bacterias Gram positivas como estreptococos y estafilococos. Se administra por vía parenteral debido a su sensibilidad al pH ácido del estómago. Sin embargo, otras penicilinas resisten el pH ácido como la fenoximetilpenicilina sintética (penicilina V), que puede administrarse por vía oral, o la ampicilina, que es activa contra bacterias Gram negativas como *Haemophilus*, *Salmonella* y *Shigella* (Lizarbe, 2009, p. 22).

Ejemplos de antibióticos con un espectro de acción amplio, sobre bacterias Gram negativas y Gram positivas son el cloranfenicol, las tetraciclinas y las penicilinas de amplio espectro; de espectro intermedio, sobre Gram positivas, la penicilina G y la oxacilina; de bajo espectro, frente a cocos Gram positivos y bacilos Gram negativos, la vancomicina y la polimixina; de espectro selectivo, la nistatina que actúa casi exclusivamente sobre *Candida albicans*. Además, un antibiótico no debe inducir resistencia, debe ser estable en líquidos corporales (o se deberá utilizar sólo tópicamente) y su período de actividad debe ser largo; no debe ejercer efectos dañinos en el paciente ni generar una respuesta alérgica (Lizarbe, 2009, p. 23).

Tabla 1. Mecanismo de acción y clasificación, antibióticos

Fármaco	Clasificación	Mecanismo
Penicilina Ampicilina Carbenicilina Meticilina Cefalosporinas	Inhibición de la síntesis de la pared celular	Inhiben a las enzimas de transpeptidización que participa en la formación de los enlaces entre las cadenas polisacáridas del peptidoglicano de la pared celular.
Vancomicina	Inhibición de la síntesis de la pared celular C-glucósido	Se une a la región D-Ala-D-Ala del tetrapéptido de las cadenas de glicanos por lo que inhibe la reacción de transpeptidización.
Bacitracina	Inhibición de la síntesis de la pared celular	Interfiere con la desfosforilación de una molécula que transporta precursores del peptidoglicano en la membrana celular.
Estreptomicina Gentamicina	Inhibición de la síntesis proteica	Interaccionan con la subunidad 30S del ribosoma bacteriano; inhibiendo la síntesis proteica y provocando una lectura errónea del RNA mensajero.
Tetraciclina	Inhibición de la síntesis proteica	Se unen a la subunidad 30S del ribosoma e interfiere con la unión aminoacil-tRNA.

Cloranfenicol	Inhibición de la síntesis proteica	Interacciona con la subunidad 50S del ribosoma bacteriano; inhibe a la peptidiltransferasa bloqueando la formación del enlace peptídico.
Eritromicina Clindamicina	Inhibición de la síntesis proteica	Se unen a la subunidad 50S del ribosoma e inhiben la translocación en la etapa de elongación de la cadena polipeptídica.
Ácido Fusídico	Inhibición de la síntesis proteica	Se une al factor de elongación EF-G bloqueando el proceso de la translocación.
Ciprofloxacino Otras quinolonas	Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos	Inhiben a la DNA girasa bacteriana interfiriendo en la replicación del DNA bacteriano y en la transcripción.
Rifampicina	Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos	Bloquea la síntesis de RNA uniéndose e inhibiendo a la RNA polimerasa dependiente de DNA.
Polimixina B	Alteración de la membrana celular	Se une a la membrana plasmática alterando su estructura y sus propiedades de permeabilidad.
Sulfamidas	Antagonismo metabólico	Inhiben la síntesis de ácido fólico compitiendo con el ácido-p-aminobenzoico.

Trimetoprima	Antagonismo metabólico	Antibiótico bacteriostático, inhibidor de la enzima dihidrofolato reductasa por lo que bloquea la síntesis del tetrahidrofolato.
Dapsona	Antagonismo metabólico	Antibiótico bacteriostático que inhibe la síntesis de ácido para-aminobenzoico.
Isoniazida	Antagonismo metabólico	Inhibe la síntesis del ácido micólico impidiendo la formación de la pared bacteriana.

Fuente: (Lizarbe, 2009, p. 24).

Figura 19. Relación bencilpenicilina y la cadena peptídica (R-D-Ala-D-Ala) del peptidoglicano de *Streptomyces*

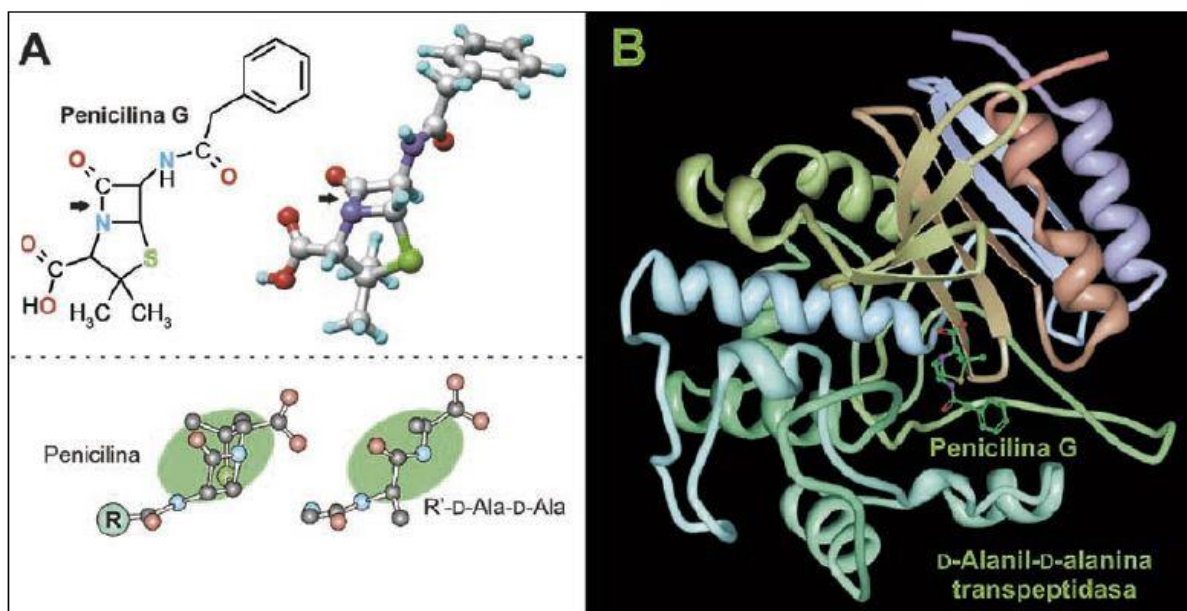


Figura 6. Estructura de la bencilpenicilina. (A) Estructura de la penicilina G derivada del ácido 6-aminopenicilánico mostrando (con una flecha) el enlace del anillo  $\beta$ -lactámico de la molécula que es reconocido por la transpeptidasa. En la parte inferior se muestra la analogía estructural de la penicilina y de la parte final de la cadena peptídica (R-D-Ala-D-Ala) del péptidoglicano de bacterias gram-negativas, región reconocida por la transpeptidasa para formar los enlaces de entrecruzamiento. (B) Estructura del complejo de la penicilina G unida a la D-alanil-D-alanina transpeptidasa de *Streptomyces* R61 [103]. La figura se ha creado a partir del fichero PDB 1PWC del Protein Data Bank utilizando el programa PDB ProteinWorkshop v3.7 [104].

Fuente: (Lizarbe, 2009, p. 22).

En la figura 19 se compara la estructura del núcleo de una penicilina y su analogía con la región D-Ala-D-Ala del peptidoglicano. La analogía del enlace del anillo  $\beta$ -lactámico de la penicilina con la región del enlace D-Ala-D-Ala terminal de la cadena pentapeptídica del péptidoglicano ocasiona que las penicilinas funcionen como inhibidores del proceso de transpeptidación interfiriendo en la formación del péptidoglicano. De esta forma, la penicilina provoca la formación de una pared bacteriana débil, lo que favorece la lisis osmótica de la bacteria durante el proceso de multiplicación o su fagocitación (Lizarbe, 2009, p. 25).

La membrana celular también es el blanco de los antibióticos. Las polimixinas, como la colistina, son lipopéptidos catiónicos que actúan como detergentes en la membrana externa de las bacterias gram-negativas, se insertan en la membrana exterior interaccionando con el lípido del lipopolisacárido a través del ácido graso de la polimixina. El resultado es un aumento de la permeabilidad de la membrana externa y la muerte rápida de la bacteria. La daptomicina, también un lipopéptido pero aniónico, es activa sólo frente a las bacterias gram-positivas su mecanismo de acción presume la inserción de antibiótico en la membrana interna causando una despolarización de la misma y la pérdida de potencial de membrana, lo que conduce a la inhibición de la biosíntesis de proteínas, de DNA y de RNA, con el resultado final de la muerte celular (Lizarbe, 2009, p. 26).

Las sulfamidas y la trimetoprima interfieren en la biosíntesis de los ácidos nucleicos, ya que las primeras actúan como un falso sustrato de la enzima pteridina sintetasa (que cataliza la transformación ácido p-aminobenzoico a ácido dihidropterico); compiten con el ácido fólico inhibiendo la biosíntesis de bases nitrogenadas lo que produce una paralización del crecimiento celular o la muerte del patógeno. Dos familias de antibióticos inhiben la síntesis de los ácidos nucleicos, las quinolonas y las rifamicinas, sus dianas las enzimas involucradas en la síntesis de ácidos nucleicos; la DNA girasa y la topoisomerasa IV, estas enzimas que modulan el estado topológico del DNA regulan su estructura superhelicoidal reduciendo la tensión molecular causada por el súper-enrollamiento del DNA (Lizarbe, 2009, p. 26).

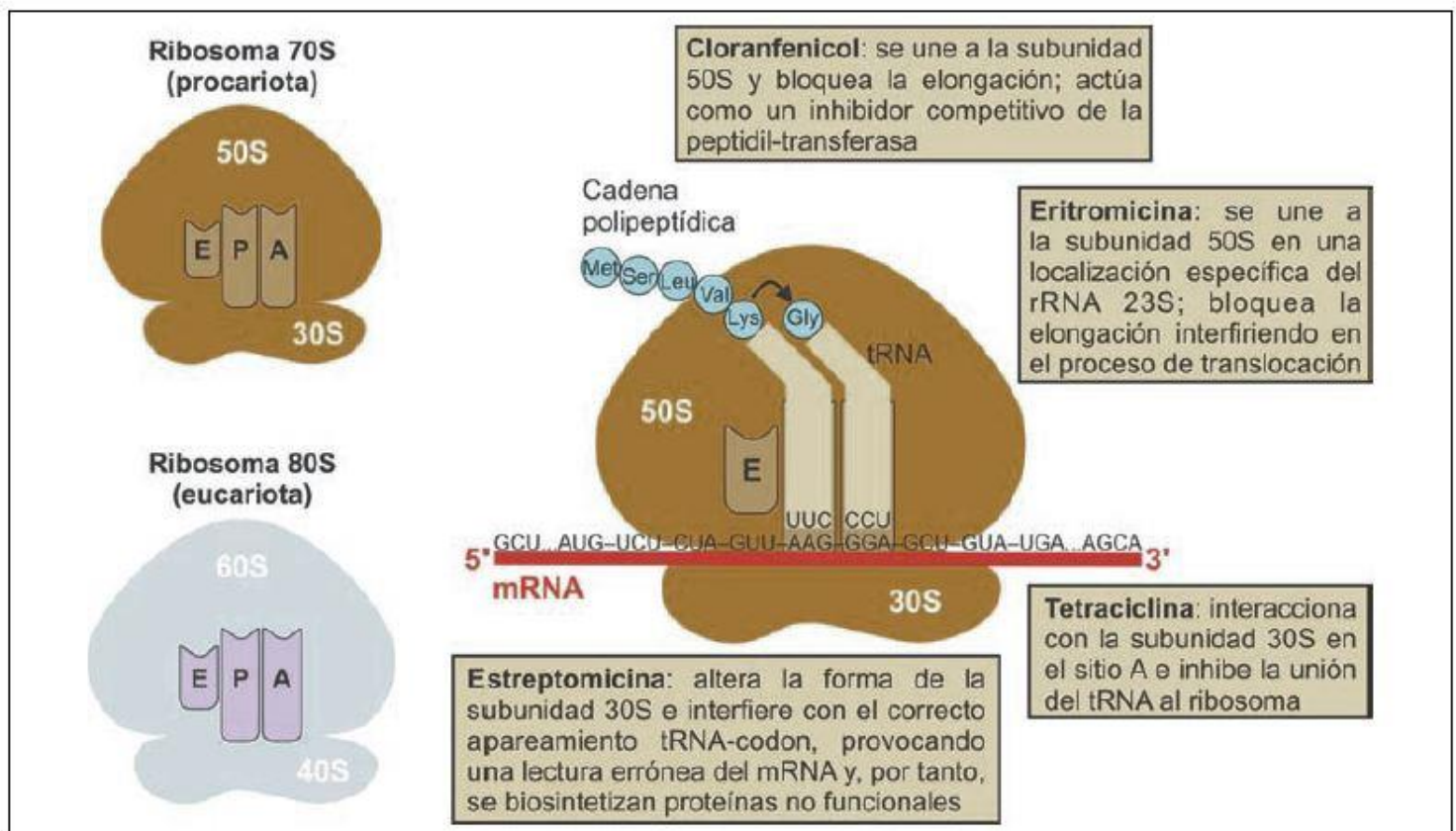
Para que el DNA pueda replicarse y transcribirse es necesario que su estructura súper-helicoidal se relaje. Estas enzimas producen cortes en la cadena de DNA, lo desenrollan y, posteriormente, sellan la rotura. Las quinolonas bloquean la reparación del DNA una vez cortado, lo cual conlleva una serie de respuestas que determinan la degradación del genoma bacteriano. El resultado es la muerte rápida de la bacteria. Por otro lado, las rifamicinas inhiben la transcripción del DNA a RNA; la rifampicina es uno de los antibióticos más potentes y de amplio espectro frente a patógenos bacterianos y es un componente clave en la terapia antituberculosa. La rifampicina interacciona con la subunidad  $\beta$  de la RNA polimerasa bacteriana dependiente de DNA (Lizarbe, 2009, p. 26).

La ARN polimerasa II de las células humanas no es sensible a las rifamicinas. La nitro-furantoína es un derivado del nitrofurano que puede actuar sobre la síntesis de proteínas o provocar, en su forma reducida, un daño en el DNA bacteriano. Una vez reducida en el interior de la bacteria por la nitro-furano reductasa, puede unirse a proteínas ribosómicas y bloquear la traducción o alterar el metabolismo. La biosíntesis de proteínas es el proceso sobre el que interfieren numerosos antibióticos; éstos interaccionan con distintas bases nitro-genadas de los ARN ribosómicos en el centro de descodificación (donde el anti codón del RNA de transferencia lee el triplete codificador del ARN mensajero), en el de formación de los enlaces peptídicos (peptidil-transferasa) o en el túnel de salida de la cadena polipeptídica recién sintetizada (Lizarbe, 2009, p. 27).

Los antibióticos no afectan a los ribosomas citoplasmáticos de las células humanas (ribosomas 80S) ya que son diferentes a los ribosomas 70S procariotas; difieren en tipo de ARN y en las proteínas ribosomales que los constituyen. En el ribosoma bacteriano, el centro de des-codificación lo constituye una pequeña región del ARN ribosomal 16S de la subunidad 30S, y la unión del antibiótico puede producirse en un surco poco profundo (por ejemplo, la estreptomina) en el surco mayor de la hélice 44 del ARN 16S (por ejemplo, amino-glucósidos), en el túnel de la salida de la proteína recién formada los antibióticos los antibióticos interaccionan con los nucleótidos del bucle del dominio V del ARN ribosomal de la sub-unidad 50S (Lizarbe, 2009, p. 27).

Los amino-glicósidos se han descrito como un buen modelo para diseñar antibióticos por su unión con alta afinidad y su actividad de amplio espectro. Se enlazan a un lugar próximo al sitio catalítico del centro de des-codificación (sitio A) lo que origina un cambio conformacional en la hélice 44 del RNA ribosomal 16S con la reorientación de dos adeninas de dicho RNA y provocando una disminución en la especificidad de las interacciones codón-anticodón. Así, se pueden unir moléculas de RNA de transferencia cuyos anticodones no son los complementarios de los codones del RNA mensajero, incorporándose amino-ácidos incorrectos a la cadena polipeptídica en formación y generando proteínas no funcionales (Lizarbe, 2009, p. 27).

Figura 20. Ribosomas procariotas y eucariotas y biosíntesis de proteínas



**Figura 9. Ribosomas procariotas y eucariotas, y biosíntesis de proteínas.** En la parte izquierda de la figura se esquematizan los ribosomas 70S procariotas (subunidades 50S y 30S) y los ribosomas 80S eucariotas (subunidades 60S y 40S). El esquema de la derecha representa la fase de formación del enlace peptídico de la etapa de elongación de la cadena polipeptídica en crecimiento. Se indican algunos ejemplos de antibióticos que bloquean la biosíntesis de proteínas y su modo de actuación.

Fuente: (Lizarbe, 2009, p. 27).

## **Resistencia bacteriana**

Según los autores Calderón y Aguilar (2016) en la revista, resistencia antimicrobiana microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad mencionan:

“Según la Organización Mundial de la Salud y el Foro Económico Mundial, la resistencia a los antibióticos es uno de los mayores problemas de salud pública mundial porque impide nuestra capacidad de controlar las enfermedades infecciosas aumentando la morbi-mortalidad, se reduce la eficacia terapéutica amenazando el progreso y causando un retroceso de la medicina moderna a la era pre-antibiótica. Permite la transmisión de microorganismos infecciosos de un individuo a otro, aumenta los costos en la atención de salud y amenaza la seguridad sanitaria perjudicando el comercio y la economía” (p. 2).

Cuando se hace referencia a resistencia microbiana se habla del mecanismo y/o capacidad que tiene un micro-organismo para resistir y sobrevivir a los efectos de un antibiótico o mediante el cual la bacteria puede disminuir o inactivar la acción de los agentes anti-microbianos. Las bacterias pueden presentar resistencia a los antibióticos como resultado de mutaciones cromosomales e intercambio de material genético de otras bacterias a través de mecanismos como: Transformación: consiste en la transferencia o incorporación por una bacteria de ADN libre extra-celular procedente de la lisis de otras bacterias (Calderón y Aguilar, 2016, p. 3).

Transducción: transferencia de ADN cromosómico o plasmídico de una bacteria a otra mediante un bacteriófago (virus que infecta bacterias). Transposición: movimiento de una sección de ADN (transposon) que puede contener genes para la resistencia a diferentes antibióticos y otros genes casete unidos en equipo para expresión de un promotor en particular. Conjugación: consiste en el intercambio de material genético entre dos bacterias (donante y receptor), a través de una hebra sexual o contacto físico entre (Calderón y Aguilar, 2016, p. 3).

Para que un antibiótico sea eficaz, debe alcanzar su objetivo en forma activa, unirse a él e interferir con su función, la resistencia bacteriana a un antibiótico puede atribuirse a tres mecanismos generales: 1) el fármaco no llega a su objetivo, 2) el fármaco no es activo

o 3) el objetivo se encuentra alterado. La membrana externa de las bacterias Gram-negativas es una barrera permeable que impide la penetración de moléculas polares grandes. Las moléculas polares pequeñas, como algunos antibióticos, penetran en la célula a través de dicho grupo de canales. La ausencia, mutación o pérdida de una porina disminuye la velocidad con que el fármaco penetra en la célula o incluso impide su entrada, reduciendo de esta manera la concentración del medicamento en su objetivo (Brunton, Lazo y Parker, 2007, p. 1123).

Cuando el objetivo es intracelular y el fármaco requiere transporte activo a través de la membrana celular, cualquier mutación o cambio fenotípico que interrumpa este mecanismo de transporte otorga resistencia. Por ejemplo, la gentamicina, cuyo objetivo son los ribosomas, se transporta a través de la membrana celular utilizando la energía proporcionada por el gradiente electro-químico de la membrana. Este gradiente es generado por las enzimas respiratorias que combinan el transporte de electrones con la fosforilación oxidativa. Cualquier mutación en una enzima de esta ruta reduce la velocidad con la que penetra la gentamicina en la célula, provocando resistencia (Brunton, Lazo y Parker, 2007, p. 1124).

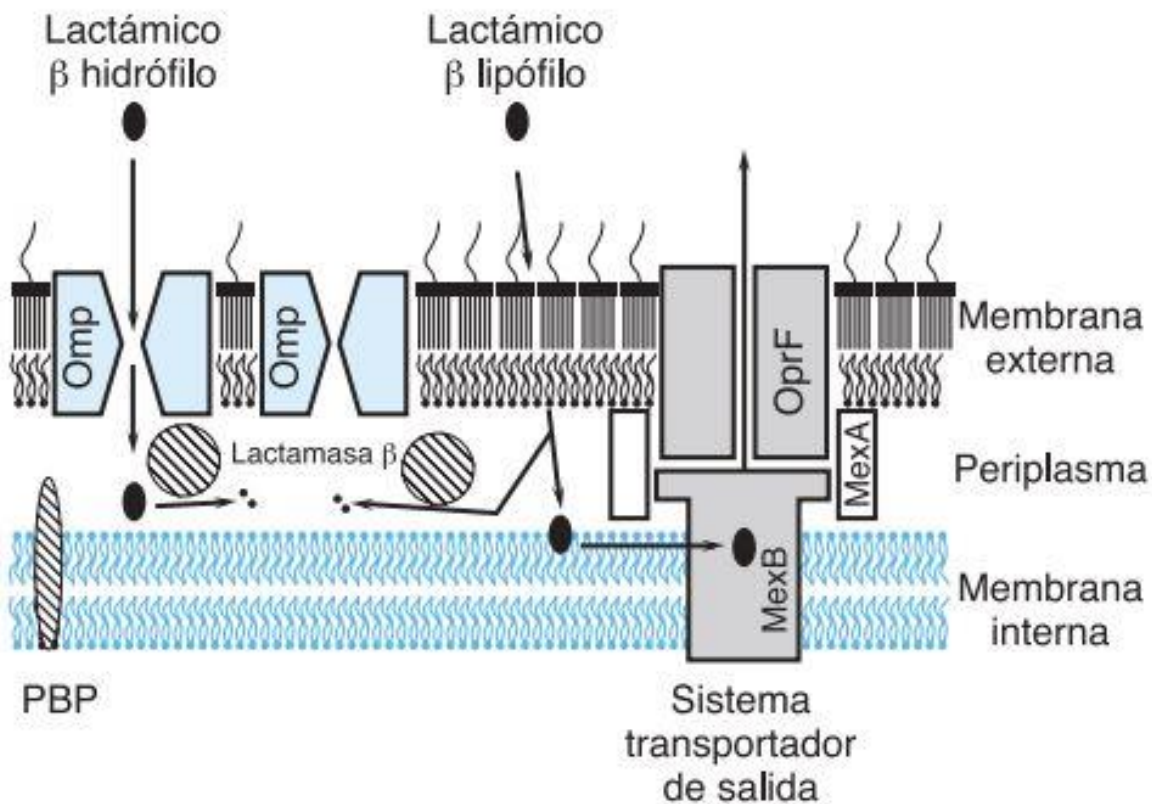
Las bacterias poseen bombas de salida que pueden transportar los fármacos hacia el exterior de la célula. La resistencia a muchos medicamentos, como tetraciclinas, cloranfenicol, fluoroquiolonas, macrólidos y antibióticos lactámicos  $\beta$  es regida por un mecanismo de bomba de salida. El segundo mecanismo general de la resistencia a los medicamentos es la inactivación farmacológica. La resistencia bacteriana a los aminogluucósidos, y antibióticos lactámicos  $\beta$  se debe a la producción de una enzima que modifica al amino-glucósido o una lactamasas  $\beta$ , respectivamente. Una variación de este mecanismo es el fracaso de la célula bacteriana para activar un pro-fármaco (Brunton, Lazo y Parker, 2007, p. 1124).

El tercer mecanismo general de la resistencia farmacológica es la presencia de un objetivo alterado. La razón es la mutación del objetivo natural (por ejemplo, resistencia a las fluoroquiolonas), la modificación del objetivo (por ejemplo, la resistencia de tipo protección ribosómica a los macrólidos y tetraciclinas) o la adquisición de una variedad resistente de un objetivo que naturalmente, es sensible (por ejemplo, resistencia de

*Estafilococo* a la meticilina gracias a la producción de una proteína enlazadora de penicilina de baja afinidad). La resistencia farmacológica puede adquirirse por mutación y selección, con lo que el carácter se transfiere de manera vertical hasta las células hijas (Brunton, Lazo y Parker, 2007, p. 1124).

La resistencia farmacológica por lo general se adquiere por transferencia horizontal de los factores que la definen a partir de una célula donadora, a menudo de otra especie bacteriana, por transducción, transformación o conjugación. La resistencia que se adquiere por transferencia horizontal se extiende con rapidez, ya sea por diseminación clonal de la cepa resistente o por transferencias subsecuentes hacia otras cepas resistentes sensibles. Asimismo, las lactamasas  $\beta$  de la clase A codificadas por el plásmido de las bacterias Gram negativas también se han diseminado profusamente hacia *Escherichia coli*, *Neisseria gonorrhoeae* y especies de *Haemophilus* (Brunton, Lazo y Parker, 2007, p. 1124).

Figura 21. Modelo que ilustra la interacción entre los componentes que gobiernan la resistencia a los antibióticos  $\beta$  lactámicos en *Pseudomonas aeruginosa*



Fuente: (Brunton, Lazo y Parker, 2007, p. 1124).

En su mayor parte, los antibióticos  $\beta$  lactámicos son hidrófilos y deben atravesar la membrana externa de la célula a través de los canales proteínicos (outer membrane protein, Omp) o porinas. El tamaño y la selectividad de carga del canal es tal, que algunas Omp reducen la velocidad o bloquean el desplazamiento del fármaco. Cuando una Omp que permite la entrada del fármaco se altera por una mutación, se encuentra ausente o se suprime, la entrada del fármaco disminuye o incluso se impide. La  $\beta$  lactamasa concentrada entre las membranas interna y externa en el espacio peri-plasmático constituye una barrera enzimática que funciona en concierto con la permeabilidad de las porinas. Si el antibiótico es un buen sustrato para la  $\beta$  lactamasa se destruirá pronto, aunque la membrana externa sea relativamente permeable al fármaco (Brunton, Lazo y Parker, 2007, p. 1124).

Cuando la velocidad con la que penetra el fármaco es lenta, una  $\beta$  lactamasa relativamente ineficaz con un índice de recambio lento puede hidrolizar suficiente fármaco como para evitar una concentración efectiva. Si el objetivo (PBP, proteína fijadora de penicilina) tiene una afinidad reducida por el fármaco o se modifica, se eleva la concentración inhibidora mínima, contribuyendo aún más a la resistencia. Por último, los antibióticos  $\beta$  lactámicos (y otros antibióticos polares) que penetran en la célula e impiden la destrucción de la  $\beta$  lactamasa pueden ser captados por un sistema transportador de salida (por ejemplo, MexA, MexB y OprF) y bombeados a través de la membrana externa, reduciendo aún más la concentración intracelular del fármaco activo (Brunton, Lazo y Parker, 2007, p. 1124).

Según los autores Pérez, Robles (2013) menciona:

“Actualmente las enfermedades infecciosas siguen siendo un problema serio de salud con una tendencia hacia el aumento debido a la aparición de cepas resistentes a los antibióticos convencionales, la resistencia que presentan las bacterias contra los antibióticos se ha convertido en un problema de salud a nivel mundial. El desarrollo de nuevos fármacos antibacterianos, su uso indiscriminado e irracional y la presión evolutiva ejercida por el uso terapéutico ha favorecido el incremento de cepas resistentes. Las infecciones causadas por bacterias

multiresistentes, causan una amplia morbilidad y mortalidad sin mencionar el costo por estancia hospitalaria y complicaciones” (p.3).

La resistencia bacteriana tiene una base genética intrínseca y una adquirida, la resistencia natural es un carácter constante de cepas de una misma especie bacteriana y es un mecanismo permanente, determinado genéticamente y sin correlación con la dosis de antibiótico. Algunos ejemplos de esto están la resistencia que presenta *Proteus mirabilis* a las tetraciclinas por un proceso natural de expulsión del antibiótico y a la colistina, debido a la presencia de un lipopolisacárido que disminuye la afinidad de los antibióticos polipeptídicos a su sitio blanco; *Klebsiella pneumoniae* que por su producción natural de beta lactamasas es resistente a las penicilinas (ampicilina y amoxicilina) (Pérez y Robles, 2013, p. 3).

La resistencia adquirida es una característica propia de una especie bacteriana, que por naturaleza es sensible a un antibiótico pero que ha sido modificada genéticamente ya sea por mutación o por adquisición de genes de resistencia (plásmidos, transposones e integrones). La mutación de un gen implicado en el mecanismo de acción de un antibiótico, podemos mencionar el ejemplo de la resistencia a las quinolonas por modificación de la DNA girasa en las enterobacterias, o las mutaciones generadas en los genes que codifican a las porinas que ocasiona el bloqueo del ingreso del antibiótico al interior del microorganismo. Por otro lado, la adquisición de genes de resistencia a partir de una cepa perteneciente a una especie idéntica o diferente, esto está dado por plásmidos, transposones e integrones (Pérez y Robles, 2013, p. 3).

Los mecanismos de resistencia son: inactivación del antibiótico, alteración del sitio blanco del antibiótico y alteración de barreras de permeabilidad. Los tres mecanismos pueden ocurrir simultáneamente, resistencia antibiótica por destrucción o modificación de la estructura química es un proceso molecular caracterizado por la producción de enzimas que van a llevar a cabo esta función. Las enzimas que destruyen la estructura química, más conocidas, son las beta-lactamasas que se caracterizan por hidrolizar el núcleo beta-lactámico rompiendo el enlace amida, otra enzima es la eritromicina esterasa que cataliza la hidrólisis del anillo de lactona de antibiótico. Entre las enzimas que se encargan de la modificación de la estructura podemos mencionar al cloranfenicol acetiltransferasa y

también a las enzimas que modifican a los aminoglucósidos, lincosamidas y estreptograminas (acetilasas, adenilasas y fosfatasas) (Pérez y Robles, 2013, p. 4).

La resistencia bacteriana conferida por la alteración del sitio en donde actúa el antibiótico consiste en la modificación de algunos sitios específicos de la célula bacteriana como la pared celular, la membrana celular, la subunidad 50S o 30S ribosomales, entre otras. Por ejemplo, la modificación por mutación de los genes GyrA y GyrB que codifican para las topoisomerasas II y IV respectivamente, ofrecen resistencia bacteriana a *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *E. coli* frente a las quinolonas. En cuanto a las modificaciones a nivel ribosomal podemos mencionar los cambios que ocurren en las subunidades 30S y 50S los cuales son los sitios de acción de aminoglucósidos, macrólidos, tetraciclinas y lincosamidas (Pérez y Robles, 2013, p. 5).

Este mecanismo de alteración en las barreras de permeabilidad, se debe a los cambios que se dan en los receptores bacterianos específicos para los anti-microbianos o por alteraciones estructurales en los componentes de envoltura de la célula bacteriana (membrana o pared celular) que influyen en la permeabilidad, así como a la pérdida de la capacidad de transporte activo a través de la membrana celular o la expresión de bombas de eflujo las cuales se activan en el momento en que el antibiótico se introduce a la célula bacteriana. La membrana celular de las bacterias Gram negativas contiene un alto contenido de lípidos con respecto a las Gram positivas (Pérez y Robles, 2013, p. 5).

En la membrana celular se encuentran las llamadas bombas de eflujo que llevan a cabo la internalización y expulsión de los antimicrobianos. El eflujo activo de antibióticos es mediado por proteínas trans membranales. En el caso de las bacterias Gram negativas involucra también componentes en la membrana externa y citoplasma. Estas proteínas forman canales que exportan activamente a un agente anti-microbiano fuera de la célula tan rápido como entra. Este mecanismo confiere resistencia a tetraciclinas, quinolonas, cloranfenicol, beta lactámicos, así como a los antisépticos y desinfectantes de tipo amonio cuaternario utilizado para la limpieza de superficies (Pérez y Robles, 2013, p. 5).

Figura 22. Principales bacterias que presentan mayor resistencia a los antibióticos

<i>Microorganismos</i>	<i>Antibióticos</i>
<i>Escherichia coli</i>	Cefalosporinas, Quinolonas, Ampicilina, Ácido Nalidixico, Trimetroprina-Sulfametoxazol, Clindamicina, Ampicilina/Sulbactam.
<i>Enterococcus sp</i>	Vancomicina, Ampicilina, Ciprofloxacina, Cefalosporinas, Aminoglucósidos.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Penicilina, Oxacilina, Ampicilina, Trimetroprina-Sulfametoxazol, Ciprofloxacina, Levofloxacina, Clindamicina, Gentamicina, Cefalexina, Ampicilina/Sulbactam, Vancomicina, Macrólidos.
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Levofloxacino, Oxacilina, Linezolid, Clindamicina, Cefalexina.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Betalactámicos, Cloranfenicol, Eritromicina, Tetraciclina, Trimetroprina-Sulfametoxazol, Fluoroquinolonas, Penicilina, Aminoglucósidos.
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Betalactámicos, Macrólidos, Aminoglucósidos, Sulfonamidas.
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Vancomicina, Aminoglucósidos.
<i>Acitenobacter sp.</i>	Meropenem, Imipenem, fluoroquinolonas, Aminoglucósidos, Trimetroprina-Sulfametoxazol, Tetraciclinas, Macrólidos, Gentamicina, Amikacina, Clindamicina.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Quinolonas, Cefalosporinas tercera generación, Carbapenémicos, Macrólidos, Aminoglucósidos, Tetraciclinas, Penicilina.
<i>Klebsiella neumoniae</i>	Cefalosporinas, Carbapenémicos, Ampicilina, Gentamicina, Amikacina.
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Fluoroquinolonas, Cefalosporinas, Macrólidos, Carbapenémicos.
<i>Micobacterium tuberculosis</i>	Carbapenémicos, Linezolid, Estreptomina, Cefalosporinas, Penicilinas.
<i>Clostridium perfringes</i>	Clindamicina, Cloranfenicol, Penicilina.
<i>Moraxella catarrhalis y Haemophilus influenzae.</i>	Betalactámicos, Macrólidos.
<i>Shigella sp.</i>	Ampicilina, Cloranfenicol.
<i>Proteus sp y Salmonella sp.</i>	Ciprofloxacina.

Fuente: Calderón y Aguilar, 2016, p. 6.

Según la autora Lizarbe (2009) menciona:

“La bacteria Gram positiva *Staphylococcus aureus* se encuentra en la piel de los individuos sanos, pero hay cepas que son fuente de infecciones nosocomiales que han adquirido resistencia frente a la penicilina y frente a penicilinas resistentes a  $\beta$ -lactamasas (como la oxacilina, cloxacilina y dicloxacilina o a la meticilina, una penicilina de cuarta generación). La propagación de las bacterias resistentes, que pone en peligro el tratamiento de enfermedades bacterianas, es un problema socio-sanitario del que se han hecho eco los

políticos y los medios de comunicación. Con campañas se informa al público y se dan recomendaciones para el uso racional de los antibióticos” (p. 29).

Los plásmidos con genes de resistencia a antibióticos pueden codificar proteínas transportadoras (bombas) que expulsan el antibiótico al exterior limitando la concentración interior del antibiótico. También se pueden sintetizar enzimas que degradan o que modifican al antibiótico, o que lo inactivan por cambios en su estructura química mediante hidrólisis del núcleo activo, acetilación, fosforilación. En el proceso de conjugación, las bacterias sensibles a antibióticos pueden recibir un plásmido que les proporcione resistencia frente a los antibióticos. Este plásmido puede contener diferentes genes que codifiquen la resistencia para más de un antibiótico. Esta resistencia puede transmitirse a las siguientes generaciones ya que los plásmidos se heredan. Por ejemplo, el plásmido RP1 codifica la resistencia a ampicilina, tetraciclina y kanamicina en *Pseudomonas* y en *Enterobacteriaceae* (Lizarbe (2009), p. 29).

### **Infecciones nosocomiales**

Según el autor Ciro Maguiña (2016) menciona:

“Las infecciones nosocomiales ocurren más frecuentemente en las de heridas quirúrgicas, las vías urinarias y las vías respiratorias inferiores. En un estudio publicado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) se da a conocer que la máxima prevalencia de infecciones nosocomiales ocurre en las unidades de cuidados intensivos (UCI) y en pabellones quirúrgicos y ortopédicos de atención de enfermedades agudas. Las tasas de prevalencia de infección son mayores en pacientes vulnerables por causa de edad avanzada, enfermedad subyacente o quimioterapia” (p. 175).

De igual manera se sabe que las infecciones nosocomiales agravan la discapacidad funcional y la parte emocional del paciente y, en algunos casos, pueden ocasionar trastornos incapacitantes que reducen la calidad de la vida, estas infecciones son una de las principales causas de muerte del paciente, los costos económicos por el tratamiento son enormes, hay estudios que señalan que la estadía prolongada de los pacientes infectados es el mayor factor contribuyente al costo hospitalario. La resistencia bacteriana viene con aumento en todo el mundo y hace algunas décadas la gran mayoría de los anti-microbianos

funcionaban bien para las infecciones comunitarias y nosocomiales, pero esto ha cambiado en los últimos años (Maguiña, 2016, p. 176).

Entre las bacterias implicadas en este fenómeno creciente tenemos bacterias Gram positivas como: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sp coagulasa negativa*, *Enterococcus sp* y Gram negativas como: enterobacterias y bacterias no fermentadoras tales: *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia Cepacia* y *Pseudomonas aeruginosa* la cual es naturalmente resistente a muchos anti-microbianos clínicos debido a su elevada capacidad de adquirir nuevos mecanismos de resistencia, a la baja permeabilidad de su membrana externa y a la expresión natural de sistemas de eflujo que expulsan antibióticos fuera de la célula (Maguiña, 2016, p. 176).

Según los autores Larrañaga y Fernández (2012) en la guía de prevención de infecciones hospitalarias mencionan:

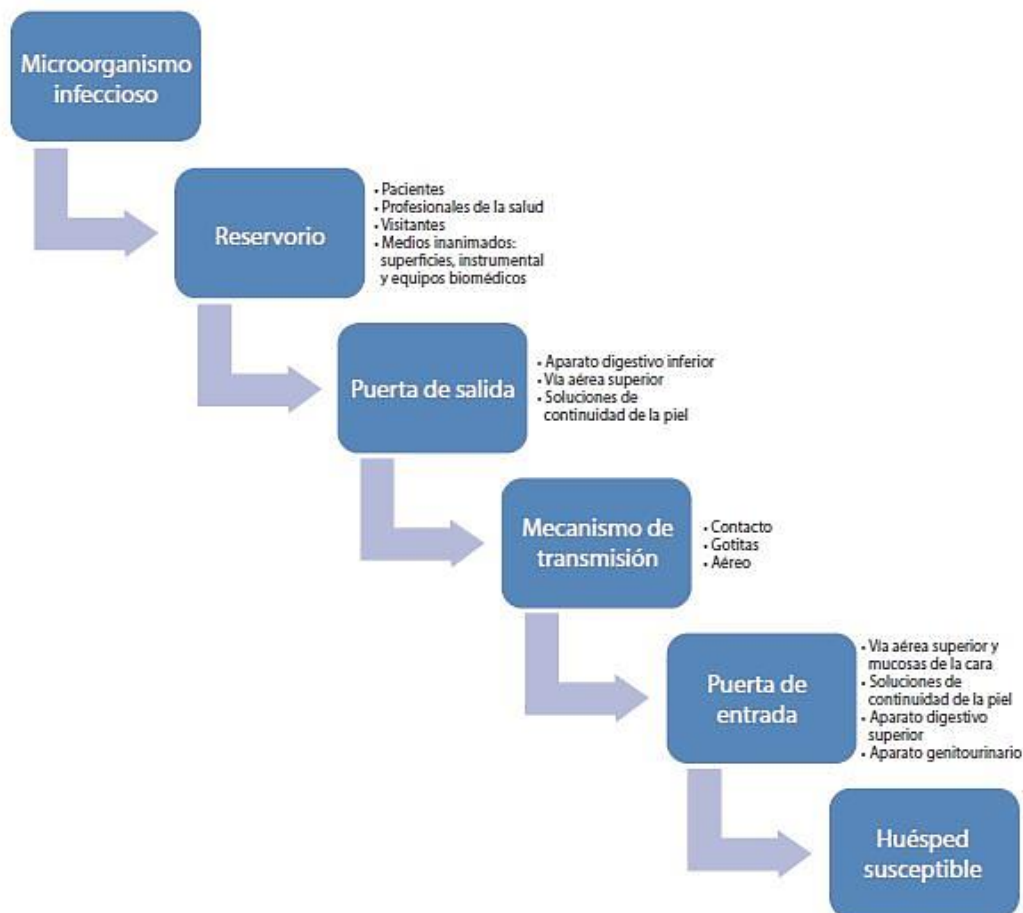
“Una infección intrahospitalaria es aquella que se presenta en un paciente internado en un establecimiento de atención de salud, en quien no se había manifestado ni estaba en período de incubación al momento de la internación, comprende las infecciones contraídas en el hospital, pero manifestadas después de alta y también las infecciones ocupacionales del personal del establecimiento. Estas infecciones generan elevados costos al prolongar los días de hospitalización, aumenta el consumo de anti-microbianos y aumenta la mortalidad, para que exista una infección se necesita de un reservorio con agentes infecciosos, un huésped capaz de recibirlos y una vía por la cual los agentes viajan del reservorio al huésped” (pp. 3-4).

La transmisión se da por cinco posibles vías; 1) por contacto: este puede ser directo persona-persona o indirecto a través de objetos (agujas, instrumental, guantes). 2) por gotas mayores de 5 micras, que NO se mantiene suspendidas en el aire son expandidas al hablar, toser o estornudar. Se transmiten por el aire a una distancia no mayor de 1 metro y se depositan en las conjuntivas, mucosa nasal o la boca del huésped. 3) transmisión aérea: a través de microgotas menores de 5 micras, partículas que quedan suspendidas en el aire y pueden ser inhaladas a distancia por el receptor 4. Transmisión por objetos comunes: agua,

medicamentos o soluciones contaminadas, equipo de terapia respiratoria 5. Transmisión por vectores vivos: insectos, roedores (Larrañaga y Fernández, 2012, p. 5).

Según la Organización Mundial de Salud [OMS] (2017) en su guía para la prevención y control de infecciones asociadas a la atención: recomendaciones básicas comenta que para que ocurra una infección o colonización, tiene que darse una secuencia de elementos que se unen para transmitir un micro-organismo infeccioso a un huésped susceptible. Las cuales permite que un agente infeccioso deje el lugar en el cual habitualmente vive y se reproduce (reservorio) a través de una puerta de salida; luego, mediante un mecanismo de transmisión, debe encontrar la puerta de entrada en un sujeto susceptible de adquirir la infección (hospedero/ huésped susceptible). Posteriormente, se requerirá que el hospedero o huésped susceptible desarrolle la enfermedad (p. 19).

Figura 23. Cadena de transmisión



Fuente: OMS, 2017, p. 20

Las infecciones más frecuentes en pacientes con trasplante de órgano son las bacterianas, fundamentalmente durante el primer mes postrasplante, la mayoría adquiridas en el ámbito hospitalario, suelen ser infecciones por micro-organismos multi-resistentes, destacando principalmente entero-bacterias Gram negativas, bacilos Gram negativos no fermentadores, enterococcus y estafilococos. Los pacientes más susceptibles a padecer infección nosocomial por bacterias son los colonizados previamente, durante la lista de espera, con bacterias multiresistentes: *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (SARM), *enterococcus* resistentes a la vancomicina, bacterias Gram negativas multiresistentes, *Clostridium difficile*, especies de *Cándida* resistentes al fluconazol y *Aspergillus* (Moreno y Ruiz, 2014, p. 2).

Uno de los focos frecuente de infección es el relacionado con la herida quirúrgica. La tasa de incidencia de esta infección en pacientes con trasplante de hígado es más alta que la registrada en otros trasplantes de órgano. Las complicaciones incluyen abscesos y peritonitis. En un reciente estudio español la infección quirúrgica se produjo en casi el 9% de los receptores de trasplante hepático, con una mortalidad asociada del 10%. El agente etiológico más frecuente fue *Enterococcus spp*, seguido de *Escherichia coli* y *S. aureus*. Los factores de riesgo asociados a esta complicación fueron coledocoyeyunostomía o hepatoyeyu-nostomía, retrasplante y requerimiento de politransfusión. En los pacientes con trasplante renal la incidencia de infección quirúrgicas es de aproximadamente el 4%, y los microorganismos responsables son principalmente *E. coli* (32%), *Pseudomonas aeruginosa* (13%), *Enterococcus faecalis* (12%), *Enterobacter spp.* (10%) y *estafilococos coagulasa negativos* (8%) (Moreno y Ruiz, 2014, p. 3).

En un estudio elaborado por los autores Siccha, Bazán, Guzmán, Rodríguez, Munariz, Egoavil (2008) titulado como: Infección urinaria intrahospitalaria en los servicios de hospitalización de Medicina de un hospital general en Perú tiene como objetivo determinar la frecuencia de ITU-IH en los servicios de hospitalización de medicina, así como las características demográficas, factores asociados, gérmenes más frecuentemente aislados y la resistencia antibiótica de los mismos. La frecuencia de las ITU-IH fue de 12%, además la bacteria más frecuente fue *Escherichia coli* seguido de *Klebsiella pneumoniae*,

las cepas de *E. coli* aisladas fueron resistentes a ciprofloxacina, ceftriaxona, amikacina y gentamicina (pp. 2, 5).

En otro estudio elaborado en un hospital de honduras (2008) se analizó un brote de infección nosocomial por *Escherichia coli* en recién nacidos en Gracias, Lempira por los autores Guillen, Hernández, García y Monge mencionan:

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, anualmente fallecen cinco millones de recién nacidos (RN) en el mundo, 32% debido a infecciones. En marzo 2008 se notificó un incremento inusual de infecciones en RN de la Unidad de Neonatología del Hospital Dr. Juan Manuel Gálvez, con factores causales desconocidos. Se hizo una investigación para identificar estos factores. La sepsis neonatal es aquella situación derivada de la invasión y proliferación de bacterias, hongos o virus en el torrente sanguíneo del RN y se manifiesta dentro de los 28 días de vida, Los microorganismos patógenos inicialmente contaminan la piel y/o mucosas del RN llegando al torrente circulatorio tras atravesar esta barrera cutáneo-mucosa, siendo la inmadurez de las defensas del neonato, sobre todo si es un RN de bajo peso, el principal factor de riesgo que predispone al desarrollo de la infección (p. 1).

Las bacterias invaden la sangre, siendo en los neonatos las más frecuentes *Klebsiella*, *E. coli*, *Pseudomonas*, *Salmonella* y *Proteus* y de las bacterias Gram positivos el más frecuente es el *Estafilococo aureus*, según estimaciones de la OMS, de total de los recién nacidos vivos en los países en vías de desarrollo, aproximadamente, el 20% evoluciona con una infección y 1% fallecen debido a la sepsis neonatal. Se realizaron tomas de muestras con el propósito de buscar la procedencia de la bacteria *E. coli* se tomaron un total de 11 muestras de diferentes sitios del ambiente de la unidad de neonatología y además muestras de las manos del personal de salud y madres, resultando dos de las 11 muestras positivas por *E. coli* para un 18%, específicamente en la solución de lavado de manos de las madres y en el bacinete de uso transitorio después del parto (p. 3).

## **Antisepsia**

Según Diomedi et al., (2017) proporciona las siguientes definiciones:

- **Limpieza:** es la eliminación por acción mecánica, con o sin uso de detergentes, de la materia orgánica y suciedad de superficies, objetos o ambiente. El agente básico para este proceso es el detergente.

- **Desinfección:** es la destrucción de microorganismos en objetos inanimados, que asegura la eliminación de las formas vegetativa pero no la eliminación de esporas bacterianas.

- **Desinfectante:** agente químico utilizado en el proceso de desinfección de objetos, superficies y ambiente.

**Antiséptico:** agente químico utilizado en el control de microorganismos de la piel u otro tejido vivo, sin afectar sensiblemente a estos mismos.

- **Esterilización:** es la eliminación completa de toda forma de vida microbiana que puede obtenerse a través del uso de métodos químicos o físicos.

- **Microbiota residente:** son los micro-organismos presentes permanentemente en la piel cavidades y órganos huecos de la mayoría de las personas, los cuales, en general, no pueden ser erradicados en forma definitiva.

- **Microbiota transitoria:** corresponde a micro-organismos presente en algunas personas, que no se mantienen necesariamente en el tiempo, habitualmente bacterias patógenas u oportunistas del ambiente intra-hospitalario.

La autora Martínez (2013), define antiséptico:

“Son agentes químicos que inhiben el crecimiento de los micro-organismos en tejidos vivos de forma no selectiva, sin causar efectos lesivos importantes y que se usan fundamentalmente para disminuir el riesgo de infección en la piel intacta, mucosas y en heridas abiertas disminuyendo la colonización de la zona. La aplicación de antisépticos incluye dos situaciones esenciales: heridas abiertas y procedimientos invasivos como canalización venosa, intervención quirúrgica o punción diagnóstica. La prevención y el manejo de la infección en heridas es un elemento fundamental en su tratamiento. El uso de antisépticos para este fin no es discutible” (p. 4).

La utilización adecuada de antisépticos y desinfectantes proporciona grandes beneficios, pero es necesario tener en cuenta que: No hay ningún desinfectante universalmente eficaz y que pueda considerarse ideal, todos tienen algún inconveniente y desventaja o ventaja sobre otros, algunos agentes químicos son buenos como antisépticos, pero no por ello son efectivos como desinfectantes, mientras que otros desinfectantes usados como antisépticos son tóxicos. No todos los elementos o instrumentos que entran en contacto con el paciente deben ser esterilizados ni requieren la misma preparación. El uso de antisépticos se limita a su aplicación sobre la piel para eliminar o disminuir la flora residente y transitoria de la misma. La selección y utilización inadecuada de estos productos químicos puede producir alteraciones físicas, con un alto costo de reparación de los equipos, así como riesgo para el paciente (Martínez, 2013, p. 5).

Según Bilbao (2009) menciona:

“El antiséptico es una sustancia que inhibe el crecimiento o destruye microorganismos sobre tejido vivo. El desinfectante es un compuesto que ejerce la misma acción (inhibir el crecimiento o destruir microorganismos) sobre superficies u objetos inanimados. Por consiguiente, la misma sustancia puede ser utilizada como antiséptico o desinfectante, ya que el mecanismo germicida no varía según la superficie de aplicación. Un desinfectante es, además, un antiséptico si no es

irritante en el tejido a aplicar, no es inactivado por la materia orgánica y no produce toxicidad por absorción sistémica” (p. 1).

Los criterios para la elección de un desinfectante ideal deben aproximarse a las siguientes propiedades esto según la autora Martínez (2013) en la guía de antisépticos y desinfectantes:

- Ser fácil de usar (facilita el cumplimiento de los protocolos alcanzando mayor eficacia).
- Que no se necesite protección especial (ej: guantes de semivacío).
- Nula toxicidad (no volátil).
- Capacidad de limpieza.
- Olor agradable.
- Que no oxide ni altere el material.
- Que desincruste y no atasque los canales de trabajo.
- Que ofrezca más seguridad.
- Que sea respetuoso con el medio ambiente y con el medio laboral.

### **Clasificación de los antisépticos de acuerdo a su composición química**

Según los autores López *et al.*, (2014), menciona:

“Hay distintas clasificaciones; la que se presenta a continuación es una de las que se realiza en función de la composición bioquímica de estos, que los divide en: compuestos alcohólicos (alcohol), biguanidas (clorhexidina), compuestos halogenados (yodo), oxidantes (peróxido de hidrógeno), iones metálicos (plata, cobre), compuestos de amonio cuaternario y otros menos habituales (anilinas, bifenoles). Compuestos alcohólicos son compuestos orgánicos del agua con actividad anti-microbiana de amplio espectro: bacterias Gram negativas, Gram positivas, mico-bacterias, hongos y virus (hepatitis B y virus del VIH), pero no son activos frente a esporas. Además, constituyen un buen solvente de otros productos antisépticos y desinfectantes potenciando su actividad” (p. 2).

El mecanismo de acción consiste en destruir la membrana celular y desnaturalizar las proteínas además se trata de compuestos muy volátiles y normalmente inflamables. Son antisépticos de acción rápida, que secan e irritan, por lo que su uso en heridas abiertas no está recomendado, incluso pueden favorecer la formación de coágulos que promuevan la colonización de la herida. El uso adecuado consistiría en mantener una zona húmeda con estos compuestos mediante el empleo de algodones empapados un corto período, ya que la fricción simple disminuye su actividad (López et al., 2014, p. 3).

Biguanidas, si bien hay diversas sales de clorhexidina, la más usada en la práctica clínica es el gluconato de clorhexidina, por sus características de solubilidad, que permiten la combinación con alcohol, incrementando su actividad. Es estable a temperatura ambiente y necesita ser protegido de la luz, en presencia de pH alcalino y jabones/detergentes anicónicos se disminuida su actividad, se recomienda no mezclar con otros antisépticos no alcohólicos ya que podría precipitar. Su mecanismo de acción consiste en actuar sobre la membrana citoplasmática con un efecto máximo en 20 s y un posterior efecto residual, previniendo el crecimiento microbiano durante unas 29 horas (López et al. 2014, p. 6).

Es bactericida sobre bacterias Gram positivas, Gram negativas, algunas cepas de *Proteus spp.* y *Pseudomonas spp.*, levaduras y mohos. Respecto a su acción antiviral incluye VIH, herpes simple, citomegalovirus e influenza. No actúa sobre micobacterias y esporas. La clorhexidina se usa a diferentes concentraciones: solución acuosa al 4% con base detergente para el lavado corporal del paciente y lavado de manos pre-quirúrgico, solución acuosa al 1% sobre heridas, solución alcohólica al 0,5-2% (alcohol etílico o isopropílico al 70%) para desinfección de la piel en procedimientos preoperatorios. Su absorción en la piel y mucosas es mínima, incluso en quemados y neonatos (López et al., 2014, p. 6).

Compuestos halogenados son un grupo de compuestos no metálicos que forman sales haloideas, pertenecen al VII grupo del sistema periódico y se caracterizan por su fuerte electronegatividad. Dentro de este grupo, el cloro fue de los primeros antisépticos usados en la historia, tanto en medicina como en veterinaria, no está autorizado para su uso como antiséptico, ya que presenta un alto número de inconvenientes frente a los

compuestos yodado. Compuestos yodados son agentes oxidantes que precipitan las proteínas bacterianas y los ácidos nucleicos, alteran las membranas celulares al unirse a los enlaces C=C de los ácidos grasos a temperatura ambiente y actúan disminuyendo los requerimientos de oxígeno de los micro-organismos aerobios interfiriendo la cadena respiratoria por bloqueo del transporte de electrones a través de reacciones electrofíticas con enzimas (López et al. 2014, p. 6).

El yodo es un potente germicida que actúa frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, micobacterias, esporas, hongos, virus, quistes y protozoos, la actividad antiséptica de cada preparación depende del yodo en forma libre. Pierde actividad en presencia de materia orgánica (sangre, pus). Tintura de yodo, mitigada, o alcohol yodado es una mezcla que contiene un 2% de yodo metaloide más un 2,5% de yoduro potásico en alcohol al 50%. Es uno de los antisépticos más habituales, aunque su uso puede dar lugar a coloración de la piel, irritación o reacciones de hipersensibilidad cuando se deja por muchas horas sin retirar (López et al., 2014, p. 6).

Yodóforos: Son la combinación de yodo con agentes tensioactivos, formando así un complejo que libera lentamente yodo orgánico; de esta forma se consigue que sea menos irritante para la piel, el yodo liberado actúa por medio de reacciones de oxidación-reducción alterando moléculas vitales para la supervivencia de los micro-organismos. El más conocido de este grupo es la povidona yodada (contiene entre el 9 y el 12% de yodo disponible), se ha observado que las soluciones menos concentradas poseen más actividad anti-microbiana, ya que la disolución aumenta la liberación del yodo. Su espectro de acción es amplio, aunque su acción es más lenta y menos eficaz que la tintura de yodo (López et al., 2014, p. 7).

Oxidantes: Su mecanismo de acción consiste en la inactivación de proteínas enzimáticas actuando sobre los grupos -SH de las proteínas de estructura y función de las bacterias. Los principales compuestos oxidantes utilizados como antisépticos son el peróxido de hidrógeno y el permanganato potásico. Peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) Agente químico líquido e incoloro, que se utiliza en formulaciones del 5 al 20%; las soluciones estabilizadas al 6% (20 volúmenes) son las más utilizadas como antiséptico. Es un agente oxidante de acción muy breve, ya que rápidamente es degradado

por las catalasas de los tejidos, resulta útil como agente químico desbridante (López et al., 2014, p. 7).

Permanganato potásico: Se inactiva con más facilidad que el anterior y posee una acción muy lenta, de aproximadamente 1 h. Se utiliza al 0,1% en lavado de úlceras y heridas, aunque está prácticamente en desuso por su rápida inactivación. Los iones metálicos como el mercurio, plata, cobre y zinc se han utilizado por muchos años como antisépticos, su mecanismo de acción consiste en precipitar proteínas e inhibir los grupos sulfhidrilos de las células de tejidos y bacterias el efecto es menor en presencia de suero y materia orgánica. Interaccionan con preparaciones que contienen yodo y azufre, inactivándose (López et al., 2014, p. 7).

Compuestos de amonio cuaternario: Son principios activos que contienen como estructura básica el ion amonio  $NH_4$ , donde cada uno de los hidrógenos está sustituido por radicales de tipos alquil y aril. El cloruro de benzalconio fue el primer compuesto de este tipo introducido al mercado. Se inactiva en presencia de pus, disolventes aniónicos y jabón. El alcohol potencia su acción, por lo que las tinturas son más eficaces que las soluciones acuosas. Aldehídos como formaldehído y glutaraldehído con compuesto intermedio entre alcoholes y ácidos. Tienen una alta toxicidad, por ellos se usan únicamente como desinfectantes de alto nivel o para esterilización de instrumentos (López et al., 2014, p. 7).

Fenoles como el triclosán cresol, hexaclorofeno, poli-cresolsulfonato ya no se usan en la asepsia de la piel por ser muy irritantes y presentar problemas de olor y toxicidad. Se emplean en la desinfección de material y de superficies. Los colorantes como violeta de genciana solo tienen actividad como antifúngico (López et al. 2014, p. 7).

## **Clorhexidina**

### **Historia**

La clorhexidina se desarrolla en la década de los 40 por Imperial Chemical Industries en Inglaterra por científicos en un estudio contra la malaria, aunque nunca fue utilizada con este fin. En ese momento los investigadores fueron capaces de desarrollar un grupo de compuestos denominados poli-biguanidas que demostraron tener un amplio espectro antibacteriano y salió al mercado en 1954 como antiséptico para las heridas de la piel (Torres, Díaz & Acosta, 2009, p. 2).

## Usos

Según los autores Sánchez, Sáenz (2005) menciona:

La clorhexidina se usa a diferentes concentraciones. En antisepsia de la piel se emplea en solución acuosa al 4% con base detergente para el lavado corporal pre-quirúrgico del paciente y lavado de las manos pre-quirúrgico, en solución acuosa al 5% para antisepsia del campo quirúrgico, sobre heridas a la concentración de 0,1% o 0,5% en solución acuosa. Además, se puede emplear en ginecología y quemaduras, uno de sus principales usos es la higiene bucal.

La clorhexidina está indicada como desinfectante

- ✓ Solamente para uso externo u oral.
- ✓ Desinfección preoperatoria de las manos del personal.
- ✓ Desinfección preoperatoria de la piel del paciente.
- ✓ Lavado de las manos en áreas críticas.
- ✓ Lavado de heridas y quemaduras.
- ✓ Baño o duchas del paciente en el preoperatorio (pacientes inmuno-comprometidos).
- ✓ Limpieza de la piel previa a procedimientos especiales (establecimiento de vías centrales, venopunción, biopsia, entre otras).

La clorhexidina tiene los siguientes beneficios:

- ✓ Acción bactericida rápida.
- ✓ Actividad residual duradera, entre 6 y 8 horas.
- ✓ Reducción rápida del número de bacterias de la piel.
- ✓ Efecto antiséptico prolongado.
- ✓ Amplio espectro de actividad.
- ✓ Activa en presencia de materia orgánica.
- ✓ Ayuda a prevenir la contaminación cruzada

Se absorbe poco por la piel, incluso en quemados y neonatos, y no hay evidencia de que esta mínima absorción, si se produce pueda ser tóxica. La toxicidad reducida se debe a que se absorbe con mucha dificultad a través de la piel. La clorhexidina no debe aplicarse sobre el SNC, meninges o en el oído medio por su neurotoxicidad y ototoxicidad que puede llegar a producir sordera. En el ojo puede provocar daños serios y permanentes si se permite que entre y permanezca en el ojo durante el procedimiento quirúrgico. No se debe usar en vendajes oclusivos. En pacientes con exposición de meninges tanto a nivel central como en la columna vertebral, debe valorarse las ventajas del empleo en la preparación preoperatorio (Sánchez y Sáenz, 2005, p. 84).

Figura 24. Distintas formulaciones de clorhexidina y sus respectivas indicaciones

Presentaciones comerciales	Indicaciones de uso
Solución jabonosa 2% o 4%	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lavado de manos quirúrgico</li> <li>• Preparación de piel previo a procedimientos invasivos: inserción catéteres vasculares, cirugía</li> <li>• Baño en pacientes hospitalizados usuarios de catéter venoso central</li> </ul>
Clorhexidina en base alcohólica al 0,5% o 2%	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Preparación de piel previo a procedimientos invasivos: punción venosa, instalación de catéteres vasculares, cirugías a excepción de neuroquirúrgicas y oftalmológicas</li> </ul>
Clorhexidina 1% y alcohol 61%	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lavado de manos quirúrgico</li> </ul>
Clorhexidina tinturada en base acuosa 2%	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Preparación de la piel previo a cirugías a excepción de neuroquirúrgicas y oftalmológicas</li> </ul>
Clorhexidina en base acuosa 2%	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Preparación de la piel previo a Cirugías a excepción de neuroquirúrgicas y oftalmológicas.</li> </ul>
Solución oral 0,12% o gel 0,2%	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colutorios bucales</li> <li>• Cirugía odontológica</li> <li>• Aseos en cavidad bucal en pacientes sometidos a ventilación mecánica</li> </ul>
Apósito con gel o esponja con clorhexidina 2%	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cobertura de catéteres venosos</li> <li>• Cobertura del sitio de inserción fijadores externos</li> </ul>

Fuente: Diomedí et al., 2017, p. 163

### **Mecanismo de acción de la molécula de clorhexidina**

La actividad antimicrobiana es atribuida a su unión y disrupción de la membrana citoplasmica esto lo logra actuando contra la pared celular de los microorganismos causando alteraciones en el equilibrio osmótico, alterando la integridad de la pared celular y facilitando la liberación de los componentes intracelulares. A bajas concentraciones es bacteriostático, las sustancias de bajo peso molecular, (K y P) pasan a través de la membrana celular y altas concentraciones es bactericida, produce precipitación del citoplasma (Torres, Díaz & Acosta, 2009, pp. 2-3).

Según los autores Sánchez, Sáenz (2005), mencionan:

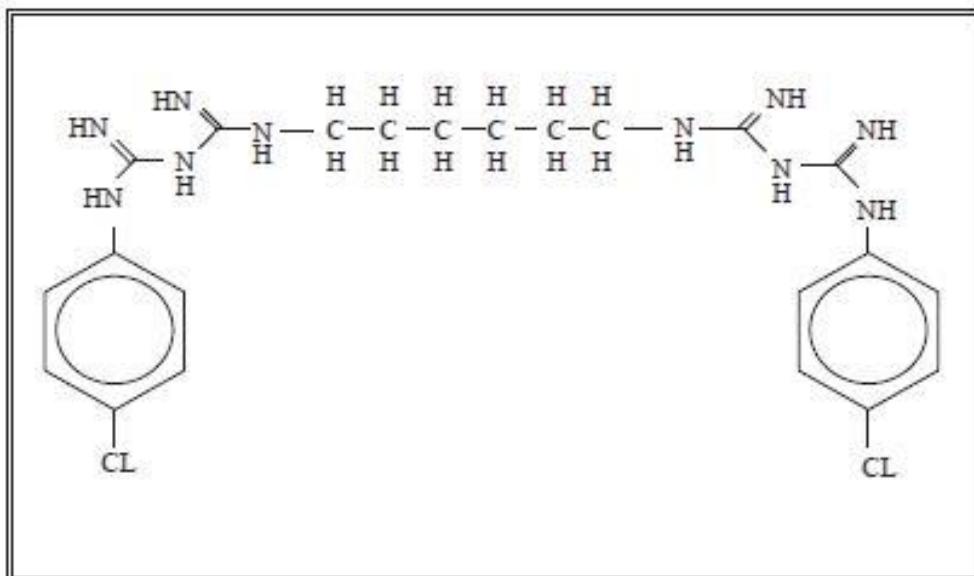
“El sitio de acción primario de la clorhexidina es la membrana citoplasmática, dando como resultado la modificación en la permeabilidad, debido a la interacción electrostática con los fosfolípidos ácidos. Se ha demostrado que la absorción por difusión pasiva a través de las membranas es extraordinariamente rápida tanto en las bacterias como en las levaduras, consiguiéndose un efecto máximo en 20 segundos. A bajas concentraciones produce una alteración de la permeabilidad osmótica de la membrana y una inhibición de las enzimas del espacio peri-plasmático. A concentraciones altas origina la precipitación de las proteínas y ácidos nucleicos” (p. 90).

Este compuesto es una base fuerte dicatiónica a PH superior a 3.5 con dos cargas positivas en cada extremo del puente hexametileno. Es esta naturaleza dicatiónica la que lo hace extremadamente interactiva con los aniones, lo que es relevante para su eficacia, seguridad, efectos secundarios colaterales y su dificultad para formularla en productos, Aunque es una base, la clorhexidina se mantiene más estable en su forma de sal y la preparación más común es la sal de digluconato por su alta solubilidad en agua (Maya, Jamil, Pacheco, Liliana & Virginia, 2011, pp. 99-100).

La clorhexidina es una molécula bicatiónica simétrica, es un dímero proguanil por lo que decimos que es una biguanida, la cual está conectada por una cadena central

hexametileno. En cada extremo se enlaza un radical paraclorofenil (2 anillos 4 clorofenil), resultando su nombre completo: paraclorofenilbiguanida (Maya et al., 2011, pp. 99-100).

Figura 25. Estructura Molecular Clorhexidina



Fuente: (Maya et al., 2011, p. 100).

### Efectos adversos y contra-indicaciones

Los autores Diomedi et al. (2017) menciona los siguientes efectos adversos y contra-indicaciones de la clorhexidina

“A concentraciones altas se han descrito graves problemas sobre la córnea y en concentraciones superiores a 2%, clorhexidina es tóxica, tanto para la córnea como para la conjuntiva ocular. Instilada en el oído medio puede producir sordera a causa de su reconocido potencial de ototoxicidad. En relación al uso odontológico, los enjuagues de clorhexidina tienen riesgo de producir tinción de los dientes debido a que pueden precipitar o unirse a los cromógenos aniónicos de la dieta. También ocasionan alteraciones del gusto, de forma temporal, cuando se administran en forma continuada. En raros casos, se ha descrito descamación de la mucosa bucal y tumefacción de la glándula parótida” (pp. 163-164).

Este antiséptico debiera contraindicarse en pacientes con alergia o hiper-sensibilidad a clorhexidina, cirugía oftalmológica o neuro-quirúrgica y no debiera utilizarse en la preparación preoperatoria de la piel de la cara y la cabeza. Debe evitarse el contacto con las meninges, y se debe esperar a que se seque previo a una punción raquídea o espinal para evitar el ingreso de solución durante el procedimiento, lo que aumentaría el riesgo de aracnoiditis. En casos de pacientes con perforación del tímpano, no se recomienda su uso local ya que se han descrito sordera al instilar clorhexidina en el oído medio (Diomedes et al., 2017, p. 164).

### **Factores que afectan la potencia de los antisépticos y desinfectantes**

Concentración del agente y tiempo de actuación: existe una estrecha correlación entre la concentración del agente y el tiempo necesario para matar una determinada fracción de la población bacteriana. Si se modifica la concentración se provocan cambios en el tiempo para lograr un mismo efecto. Un ejemplo es con los fenoles: un pequeño cambio en la concentración provoca cambios muy acentuados en el tiempo para lograr un mismo efecto, así, si reducimos la concentración de fenol desde un valor dado a la mitad, necesitamos emplear 64 veces más tiempo para conseguir matar una misma proporción de bacterias. Refiriéndonos al tiempo, no todas las bacterias mueren simultáneamente, ni siquiera cuando se aplica un exceso del agente (Sánchez y Sáenz, 2005, p. 84).

El pH afecta tanto la carga superficial neta de la bacteria como el grado de ionización del agente. En general, las formas ionizadas de los agentes disociables pasan mejor a través de las membranas biológicas y por lo tanto son más efectivos. Los agentes aniónicos suelen ser más efectivos a pH ácidos los agentes catiónicos muestran más eficacia a pH alcalinos. La temperatura normalmente, al aumentar la temperatura aumenta la potencia de los desinfectantes. Para muchos agentes el aumento en 10° C supone duplicar la tasa de muerte (Sánchez y Sáenz, 2005, p. 84).

La naturaleza del micro-organismo y otros factores asociados a la población microbiana: según la especie, fase de cultivo, presencia de cápsula o de esporas y número de microorganismos se afecta la potencia. El bacilo tuberculoso suele resistir a los hipocloritos mejor que otras bacterias, la presencia de cápsula o esporas suelen conferir más resistencia. También la presencia de materiales extraños ya que la presencia de materia orgánica como sangre, suero o pus afecta negativamente la potencia de los antisépticos y desinfectantes de tipo oxidantes, como los hipocloritos y de tipo desnaturizante de proteínas, hasta el punto de hacerlos inactivos en cuanto a su poder desinfectante y/o esterilizante (Sánchez, Sáenz 2005, p. 84).

Figura 26. Factores que influyen la acción de la clorhexidina

Disminuyen su acción	<ul style="list-style-type: none"> <li>• pH alcalino</li> <li>• Presencia de materia orgánica</li> <li>• Agua dura</li> <li>• Detergentes aniónicos</li> <li>• Taninos</li> <li>• Numerosos colorantes</li> </ul>
Aumentan su acción	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Elevación de la temperatura</li> <li>• pH neutro</li> <li>• Detergentes no iónicos</li> <li>• Alcohol</li> <li>• Derivados catiónicos</li> </ul>

Fuente: Diomedi et al., 2017, p. 162

## Química Medicinal

El autor Gareth (2007) en su obra literaria *Medicinal Chemistry An Introduction* menciona:

“El objetivo principal de la química medicinal es el diseño y descubrimiento de nuevos compuestos que sean adecuados para su uso como drogas, este proceso involucra a un equipo de trabajadores de una amplia gama de disciplinas como: química, biología, bioquímica, farmacología, matemáticas, medicina e informática, entre otros. El descubrimiento o diseño de un nuevo medicamento no solo requiere un proceso de descubrimiento o diseño, sino también la síntesis de la droga, un método de administración, el desarrollo de pruebas y procedimientos para establecer cómo funciona en el cuerpo y evaluaciones de seguridad” (p. 28).

Las drogas se definen estrictamente como sustancias químicas que se utilizan para prevenir o curar enfermedades en humanos, animales y plantas. La actividad de una droga es su efecto farmacéutico sobre el sujeto, por ejemplo, analgésico, o  $\beta$ -bloqueador, mientras que su potencia es la naturaleza cuantitativa de ese efecto. Desafortunadamente, el término droga es utilizado por los medios y el público en general para describir las sustancias tomadas por sus efectos psicóticos en lugar de medicinales. Sin embargo, esto no significa que estas sustancias no puedan usarse como drogas. La heroína, por ejemplo, es un analgésico muy eficaz y se utiliza en forma de diamorfina en casos de cáncer terminal (Gareth, 2007, p. 28).

Según los autores Wermuth, Aldous, Raboisson, Rognar (2015) en el libro, *The Practice of Medicinal Chemistry* define química medicinal como:

“La química medicinal se refiere al descubrimiento, el desarrollo, la identificación y la interpretación del modo de acción de compuestos biológicamente activos a nivel molecular. El énfasis es en las drogas, pero no está restringido a ellas, se incluyen compuestos bioactivos en general. La química medicinal también abarca el estudio, identificación y síntesis de productos metabólicos de los fármacos y compuestos relacionados. Los objetivos de la química medicinal van desde: Descubrir, desarrollar y mejorar fármacos que curen o alivien enfermedades y entender las causas y procesos químicos que las acompañan” (pp. 27-28).

Las reglas generales son; evitar grupos funcionales muy reactivos, por ejemplo, aldehído debido a la inestabilidad oxidativa y la naturaleza hapteno, compuestos de carbonilo  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturados y 2-halopiridinas debido a su reactividad inespecífica como electrófilos. Un ejemplo típico de toxicidad, o efectos adversos incluso de desafíos es el Torcetrapib era un anti aterosclerótico candidato a fármaco que prometía convertirse en un éxito cuando en la última fase III de los ensayos clínicos, el riesgo de mortalidad aumento lo que llevó a la compañía a suspender su desarrollo. No estaba claro si los efectos fueron causados por el mecanismo de acción (inhibición de la proteína de transferencia de colesteril éster), algún otro efecto o una interacción con otra droga, este ejemplo nos demuestra que nada es obvio y nada es seguro durante el descubrimiento y desarrollo de nuevos medicamentos (Wermuth et al., 2015, p. 28).

Según los autores Ou-yang, Lu, Kong, Liang, Luo y Jiang (2012) mencionan:

“En general, se reconoce que el proceso de descubrimiento y desarrollo de nuevos medicamentos lleva mucho tiempo, es arriesgado y costoso. El ciclo típico de descubrimiento y desarrollo de medicamentos, desde el concepto hasta el mercado, lleva aproximadamente 14 años, y el costo oscila entre 0.8 y 1.0 mil millones de dólares. Aunque la inversión en el desarrollo de nuevos medicamentos ha crecido significativamente en las últimas décadas, la producción no es positivamente proporcional a la inversión debido a la baja eficiencia y la alta tasa de fracaso en el descubrimiento de medicamento” (p. 1132).

### **Pasos del desarrollo de nuevas drogas**

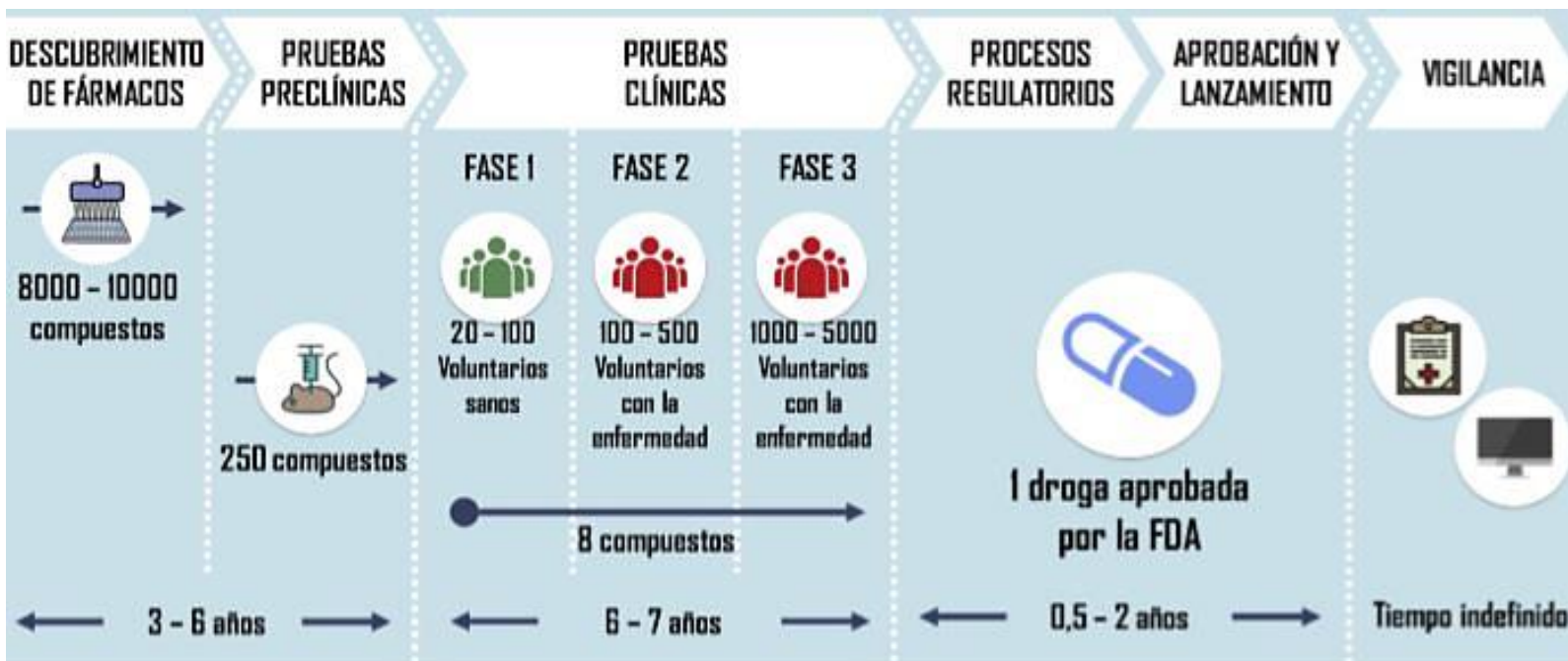
Según el autor Gareth (2007) en el libro, Medicinal Chemistry An Introduction menciona:

“El enfoque moderno para el descubrimiento/diseño de drogas va a depender de los objetivos del proyecto. Dichos objetivos van desde cambiar la fármaco-cinética de un medicamento existente, el punto de partida suele ser que el fármaco y el equipo de diseño tienen que decidir qué modificaciones estructurales deben investigarse para lograr las modificaciones deseadas. Sucesivamente, si el objetivo es encontrar un nuevo medicamento para una enfermedad específica, el punto de partida puede ser el conocimiento de la

bioquímica de la enfermedad y / o el micro-organismo responsable de esa enfermedad” (p.1).

Por lo general, se consideran varios candidatos (leads), pero el gasto de producir drogas dicta que el equipo tiene que elegir solo uno o dos de estos compuestos para actuar como compuesto principal. La selección de este lead depende de la experiencia del equipo de investigación. Los leads se obtienen de una variedad de fuentes que van desde la extracción de compuestos de fuentes naturales, síntesis mediante química combinatoria, búsqueda en bases de datos y colección de compuestos para candidatos adecuados y fuentes etno-farmacológicas. Una vez encontrado el lead, se sintetiza y se determina su actividad por medio de los estudios QSAR (estructura relación-actividad), los cuales se llevan a cabo sintetizando y probando compuestos denominados análogos. Este análogo, si fuera económicamente viable, se desarrollaría y, en última instancia, si cumplía con las regulaciones de seguridad, se pondría en uso clínico (Gareth, 2007, pp. 8-9).

Figura 27. Pasos para la elaboración de una nueva entidad médica



Fuente: Alberca, 2018, p. 4

### **Análogos moleculares**

Según el autor Alberca (2018) menciona la primera etapa es generalmente llamada. Descubrimiento de fármacos (en inglés, Drug Discovery), y comprende desde la Identificación y Validación del Blanco Molecular, hasta la identificación de sustancias químicas que logren inhibir el blanco seleccionado. Las técnicas de Cribado Farmacológico de Alto Rendimiento (High Throughput Screening, HTS) permiten evaluar con rapidez decenas a cientos de miles de compuestos frente a un blanco molecular; adicionalmente, se pueden utilizar técnicas computacionales (*in silico*) para seleccionar de una manera más racional qué compuestos evaluar experimentalmente. Las moléculas que demuestren actividad satisfactoria frente al blanco molecular son denominadas “hits” (p. 41).

Posteriormente, los hits son optimizados para mejorar su potencia y otras propiedades significativas a través de ciclos de evaluación, para conducir a los “Compuestos líderes” (lead compounds) que pueden ser subsecuentemente optimizados (Optimización del líder). También se pueden utilizar las estrategias *in silico* para determinar qué características deberían tener los análogos del hit o el líder, según el caso, para mejorar su actividad. En esta última etapa es habitual interrogar distintos modelos animales (Ensayos preclínicos) para guiar la optimización molecular. Los estudios en animales permiten evaluar potencia y toxicidad en sistemas complejos, y comenzar la caracterización fármaco-cinética *in vivo* (Alberca, 2018, p. 43).

Finalmente, alcanzados ciertos estándares de desempeño, el mejor candidato es sometido a pruebas clínicas para determinar la seguridad, los efectos adversos, las dosis adecuadas, la eficacia y las propiedades fármaco-cinéticas y farmacológicas de la droga candidata en humanos. El enfoque basado en el blanco molecular consiste en el cribado de una biblioteca de compuestos contra un blanco molecular validado y la posterior optimización de los compuestos para mejorar la potencia y la selectividad frente al blanco, la actividad celular y las propiedades fármaco-cinéticas (Alberca, 2018, p. 43).

### **Propiedades deseables a la hora de elaboración de análogos**

Según el autor Gareth (2007) en el libro *Medicinal Chemistry An Introduction* menciona las propiedades que hay que prestarle especial consideración:

La biodisponibilidad de un medicamento se define como la fracción de dosis de un medicamento en circulación sistémica. Lipinski et al., propuso un conjunto de cuatro reglas que predice si una molécula puede llegar a ser biodisponible por vía oral. Es improbable que cualquier compuesto que no cumpla con dos o más de las reglas sea biodisponible, es decir, es poco probable que sea activo. Las reglas de Lipinski se basan en múltiplos de cinco y por eso a menudo se les conoce como la regla de los cinco (p. 9).

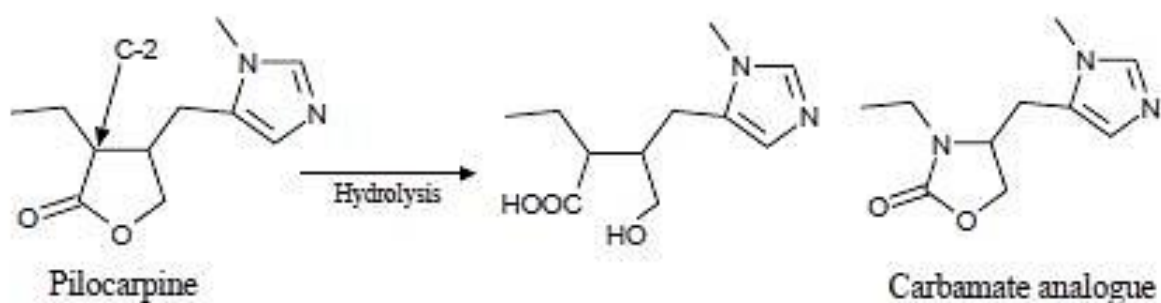
- Masa molecular inferior a 500
- Un valor calculado de log P menor que 5 (coeficiente de partición octanol/agua)
- Menos de diez grupos aceptores de enlaces de hidrógeno (-O- y -N-)
- Menos de cinco grupos donantes de enlaces de hidrógeno (NH y OH)

La naturaleza de las estructuras de los leads y los análogos determinara la capacidad del mismo para unirse a los receptores. Esta unión es la formación ya sea temporal o permanente, de enlaces químicos entre el análogo o fármaco con su receptor. Por ejemplo, la unión de la mayoría de los medicamentos o análogos toma la forma de un equilibrio, en el que el medicamento o análogo forma enlaces electrostáticos débiles, como enlaces de hidrógeno y fuerzas de van der Waals, con el receptor. Finalmente, el fármaco, o el análogo, se elimina del receptor mediante procesos naturales y esto hace que se detengan los procesos biológicos debido a la actividad del receptor. No obstante, algunos medicamentos y análogos actúan formando enlaces fuertes por medio de enlaces covalentes con el receptor (Gareth, 200, p.10).

Un medicamento solo será efectivo si, después de la administración, es lo suficientemente estable como para alcanzar en su sitio de acción una concentración suficiente para lograr el efecto deseado, en otras palabras, este deberá ser estable el tiempo suficiente después de la administración para que cantidades suficientes lleguen a su destino. Tres estrategias se usan comúnmente para mejorar la estabilidad in situ de un medicamento (Gareth, 2007, pp. 10, 14).

El método principal para aumentar la estabilidad del fármaco en el sistema biológico es preparar un análogo más estable con la misma actividad farmacológica. Por ejemplo, la pilocarpina, que se usa para controlar el glaucoma, pierde rápidamente su actividad porque el anillo de lactona se abre fácilmente en condiciones fisiológicas. En consecuencia, la disminución de la presión intraocular por pilocarpina dura aproximadamente tres horas, lo que requiere la administración de 3 a 6 dosis al día. Sin embargo, el reemplazo de C-2 de pilocarpina por un nitrógeno produce un carbamato isostérico que tiene la misma potencia que la pilocarpina, pero es más estable. Aunque este análogo se descubrió en 1989, no ha sido aceptado para uso clínico (Gareth, 2007, pp.11-12).

Figura 28. Análogo de la pilocarpina



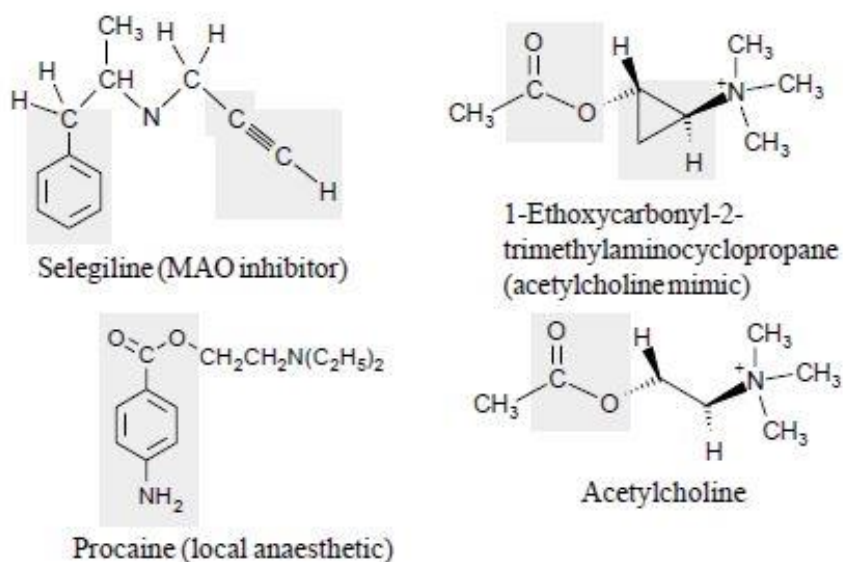
Fuente: Gareth, 2007, p. 13

Los grupos que son estructuralmente rígidos son grupos insaturados de todos los tipos y sistemas de anillos saturados entre estos se incluyen (ésteres, amidas, así como sistemas conjugados alifáticos, sistemas de anillos aromáticos y heteroaromáticos). Además, el hecho de que la estructura sea rígida significa que se pueden reemplazar por estructuras rígidas alternativas de un tamaño y forma similares para formar análogos que pueden tener diferentes características de unión y, como resultado, una actividad o potencia diferente, pero el desarrollo de estas estructuras lleva a conformaciones restringidas o rígidas que podrían dar lugar a uniones selectivas de medicamentos muy activos con efectos secundarios no deseados (Gareth, 2007, pp. 38-39).

Los datos biológicos obtenidos usando análogos de conformación restringidos pueden ser útiles para determinar la conformación más bioactiva del ligando. Si el análogo exhibe el mismo o mayor grado de actividad que el compuesto principal, se puede concluir que el análogo tiene la conformación correcta para unirse a ese sitio. Sin embargo, si el análogo no muestra actividad, el resultado podría deberse a un impedimento estérico entre el grupo rígido y el objetivo o al análogo que tiene una conformación incorrecta. En este caso, el modelado molecular puede ser de alguna ayuda para evaluar si una conformación encajaría en el sitio objetivo previsto (Gareth, 2007, pp. 40-41).

De igual manera se ha observado que un grado de flexibilidad en un medicamento mejora la acción de ese medicamento. Esto es lógico cuando uno recuerda que una droga tiene que unirse a su objetivo para iniciar su acción. Por ende, un fármaco rígido conformacionalmente puede no interactuar fuertemente con su sitio objetivo debido a un mal ajuste a ese sitio. Una estructura más flexible puede ajustarse para adaptarse mejor a su sitio objetivo y un fármaco flexible puede llegar a su sitio objetivo con mayor facilidad que un fármaco más rígido (Gareth, 2007, p. 41).

Figura 29. Ejemplos de compuestos con estructuras rígidas, las cuales están



**Figure 2.1** Examples of structural groups that impose a rigid shape on sections of a molecule. The shaded areas represent the rigid sections of the molecule

encerradas para facilitar su visualización del grupo funcional rígido.

Fuente: Gareth, 2007, p. 39.

La solubilidad es un requisito para compuestos que son candidatos potenciales a medicamentos, es que sean solubles en cierta medida en ambos lípidos y agua. Los compuestos que se disuelven fácilmente en solventes lipídicos se denominan lipófilos o hidrofóbicos, sus estructuras contienen grandes cantidades de elementos no polares (anillos de benceno, éter y éster). En cambio, los compuestos que no se disuelven tan fácil en este medio, pero se disuelven en agua, se conocen como lipofobicos o hidro-filicos en su estructura destacan grupos polares (ácidos, aminos y grupos hidroxifuncionales) (Gareth, 2007, p. 10).

El equilibrio entre los grupos polares y no polares en una molécula define su carácter lipofílico: compuestos con un alto grado de lipófila, el compuesto tendrá una buena solubilidad en lípidos, pero una pobre solubilidad en agua; Por el contrario, los compuestos con un bajo grado de carácter lipofílico tenderán a ser poco solubles en lípidos, pero tienen una buena solubilidad en agua. Es deseable que los leads y los análogos tengan un equilibrio entre su solubilidad en agua y su lipófila. Las drogas también requieren un cierto grado de solubilidad en lípidos para pasar a través de las membranas, sin embargo, si tiene un grado demasiado alto de lipófila, puede quedar atrapado en una membrana y se vuelve ineficaz (Gareth, 2007, p. 10).

De igual manera la solubilidad en agua del compuesto va a depender del número y la naturaleza de los grupos polares en su estructura, así como del tamaño y la naturaleza del esqueleto de carbono-hidrógeno del compuesto. En general, cuanto mayor sea la proporción de grupos polares con respecto al número total de átomos de carbono en la estructura, más soluble en agua es el compuesto. Los grupos polares que se ionizan en agua generalmente darán como resultado una mayor solubilidad en agua que los que no se ionizan. Sin embargo, los compuestos aromáticos tienden a ser menos solubles en agua que los no aromáticos correspondientes (Gareth, 2007, p. 49).

La solubilidad en lípidos de un compuesto depende de la naturaleza y el número de grupos no polares en su estructura. Comúnmente, cuanto mayor es el número de grupos no polares en la estructura de un compuesto, mayor es la solubilidad de los lípidos del compuesto. En consecuencia, la solubilidad en lípidos de los análogos puede mejorarse reemplazando los grupos polares por significativamente grupos menos polares o grupos no

polares. La solubilidad en agua de un lead se puede mejorar mediante tres métodos generales: formación de sal; incorporando grupos solubilizadores de agua en su estructura, especialmente aquellos que pueden unirse por hidrógeno con agua; y el uso de formas de dosificación especiales (Gareth, 2007, p. 49).

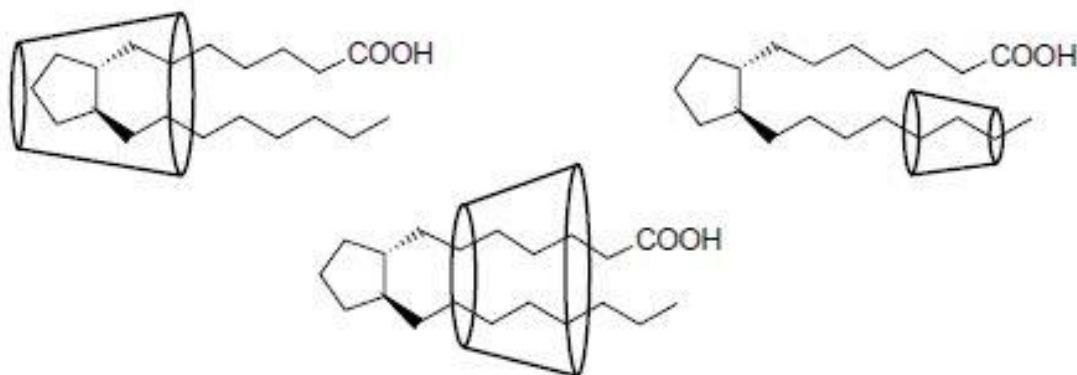
En la formación de sal, la actividad del fármaco normalmente no cambia, aunque su potencia puede ser diferente. Sin embargo, cuando se incorporan nuevos grupos estructurales en la estructura de un medicamento, la actividad del medicamento podría cambiar. En consecuencia, será necesario llevar a cabo un programa completo de ensayos en el nuevo análogo. Ambas modificaciones pueden ser un proceso costoso si tienen que llevarse a cabo en una etapa tardía en el desarrollo de fármacos. El uso de formas de dosificación especializadas (cosolventes, soluciones coloidales y emulsiones) generalmente no necesita adiciones extensas al programa de ensayos, pero estos métodos de formulación solo son adecuados para usar con algunos medicamentos (Gareth, 2007, p. 49).

La estabilidad in situ de un fármaco también puede mejorarse formando un complejo con un reactivo adecuado. Por ejemplo, la formación de complejos con hidroxipropil-b-ciclodextrina se usa para mejorar tanto la estabilidad como la solubilidad de la talidomida, que se usa para inhibir el rechazo de los trasplantes de médula ósea en el tratamiento de la leucemia. La vida media de una solución diluida del fármaco aumenta de 2,1 a 4,1 horas, mientras que su solubilidad acuosa aumenta de 50 a 1700 mg ml<sup>-1</sup>. Las ciclodextrinas son oligosacáridos cilíndricos sin fondo en forma de maceta que consisten en 6-8 unidades de glucosa (Gareth, 2007, p. 13).

El exterior de la "maceta" tiene un carácter hidrofílico, mientras que el interior tiene una naturaleza hidrófoba. La naturaleza hidrofóbica del interior de la estructura de la ciclodextrina probablemente significa que la interacción hidrofóbica juega un papel importante en la formación y estabilidad de complejo. Además, se ha encontrado que la estabilidad de un fármaco in situ a menudo mejora cuando el sitio activo de un fármaco se encuentra dentro del cilindro y disminuye cuando se encuentra fuera del cilindro. Además, se ha observado que la formación de estos complejos puede mejorar la solubilidad en agua, la bio-disponibilidad y la acción farmacológica y reducir los efectos secundarios de algunos

medicamentos. Sin embargo, una alta concentración de ciclodextrinas en el torrente sanguíneo puede causar nefrotoxicidad (Gareth, 2007, p. 13).

Figura 30. Representaciones esquemáticas de los tipos de complejos de inclusión formados por ciclodextrinas y pros-taglandinas



Fuente: Gareth (2007), p.13

### Farmacóforo

Según el autor Graham (2017) en su libro *An Introduction to Medicinal Chemistry* menciona:

“La evaluación virtual implica el uso de programas de computadora para evaluar si es probable que los compuestos conocidos como “leads” sean afín a su objetivo, los resultados de una evaluación virtual pueden ser utilizados para hacer métodos de detección experimental más eficientes, es decir si hay miles de compuestos disponibles para las pruebas experimentales, estas evaluaciones virtuales nos servirán de guía para encontrar los compuestos a estar más activos. Estas proyecciones virtuales pueden implicar la búsqueda de farmacóforos” (p.207).

Una vez que se ha establecido que grupos son importantes para la actividad de la droga, sigue la etapa de la identificación del farmacóforo el cual resume los grupos de unión importantes que se requieren para dicha actividad. Esto permite la comparación de moléculas que pueden tener el mismo farmacóforo e interacciones de unión, pero que utilicen diferentes grupos funcionales para lograrlo. En el caso que tengamos grupos fenoles estos pueden actuar como donantes o aceptores de enlace hidrogeno, el anillo aromático puede participar en las interacciones Van der

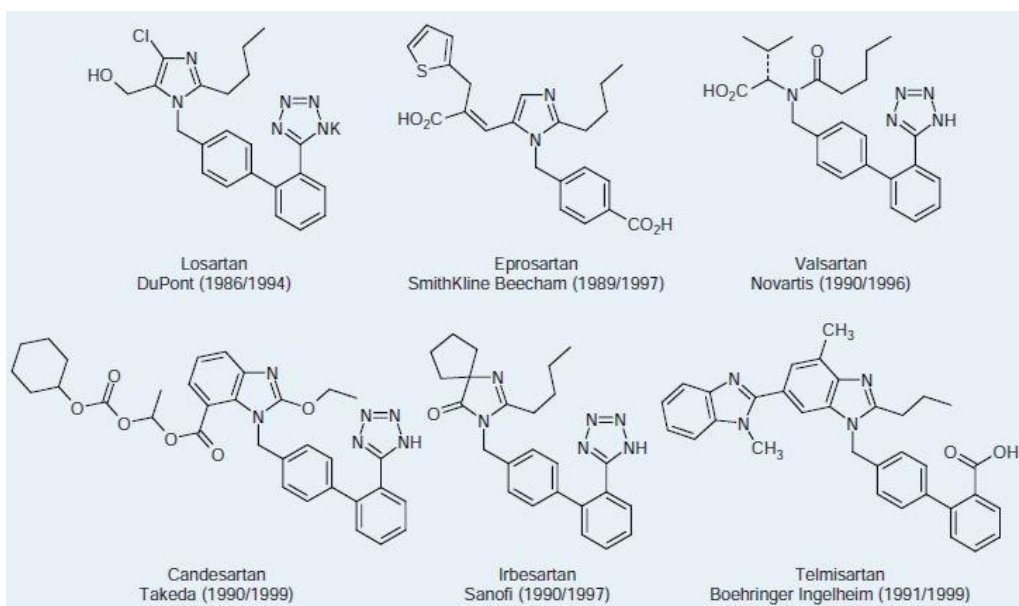
Waals y la amina puede actuar como un aceptor de enlaces hidrógeno (Gareth, 2017, p. 235).

Identificar los farmacóforos 3D es relativamente fácil para estructuras cíclicas rígidas, con estructuras más flexibles no es tan sencillo porque la molécula puede adoptar una gran cantidad de formas o conformaciones que colocan los grupos de unión importantes en diferentes posiciones entre sí. Es importante darse cuenta de que el esqueleto de la molécula está involucrado en interacciones con el sitio de unión, la fuerza de estas interacciones a veces puede ser crucial para determinar si un fármaco se une eficazmente o no y el farmacóforo en 3D no tiene eso en cuenta (Gareth, 2017, p. 236).

### Optimización del análogo

Según los autores Wermuth, Aldous, Raboisson & Rognan (2015) en el libro *The Practice of Medicinal Chemistry* menciona las principales estrategias para la elaboración de análogos. La estrategia más popular en el diseño de fármacos es la síntesis de análogos de moléculas activas existentes. El objetivo es comenzar con principios activos conocidos o medicamentos "first-in-class" y, mediante diversas transformaciones químicas, preparar nuevas moléculas, a veces denominadas "follow-on" o "me-too compounds" para los cuales un aumento en potencia, se afirma un mejor perfil de actividad específica, una mayor seguridad o una mejor formulación que sea más fácil de manejar por los médicos y enfermeras o que sea más aceptable para el paciente" (p. 74).

Figura 31. Similitud entre losartán y otros fármacos anti-hipertensivos

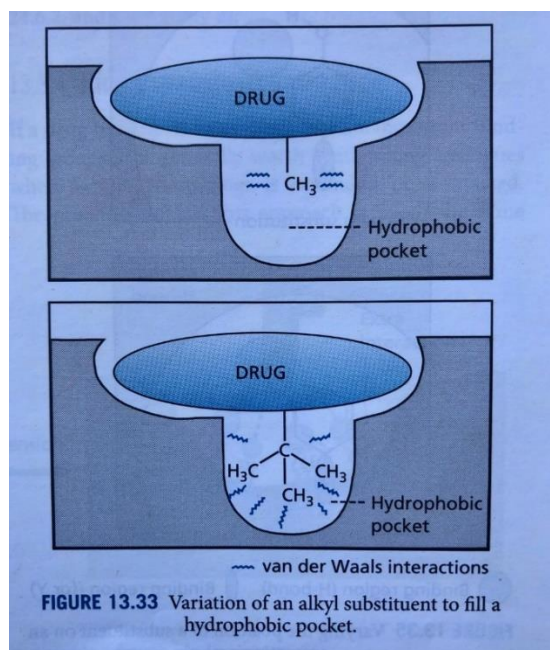


Fuente: Wermuth et al., 2015, p. 75

Según el autor Graham (2017) en su libro *An Introduction to Medicinal Chemistry* menciona: Una vez que se han identificado los grupos de unión importantes y el farmacóforo del compuesto principal, es posible sintetizar análogos, pero, ¿Para qué es necesaria la elaboración de análogos? Esto debido a que muy pocos compuestos son ideales ya que pueden tener poca actividad, selectividad, efectos secundarios significativos o son difíciles de sintetizar. Entre las estrategias de optimización nos encontramos:

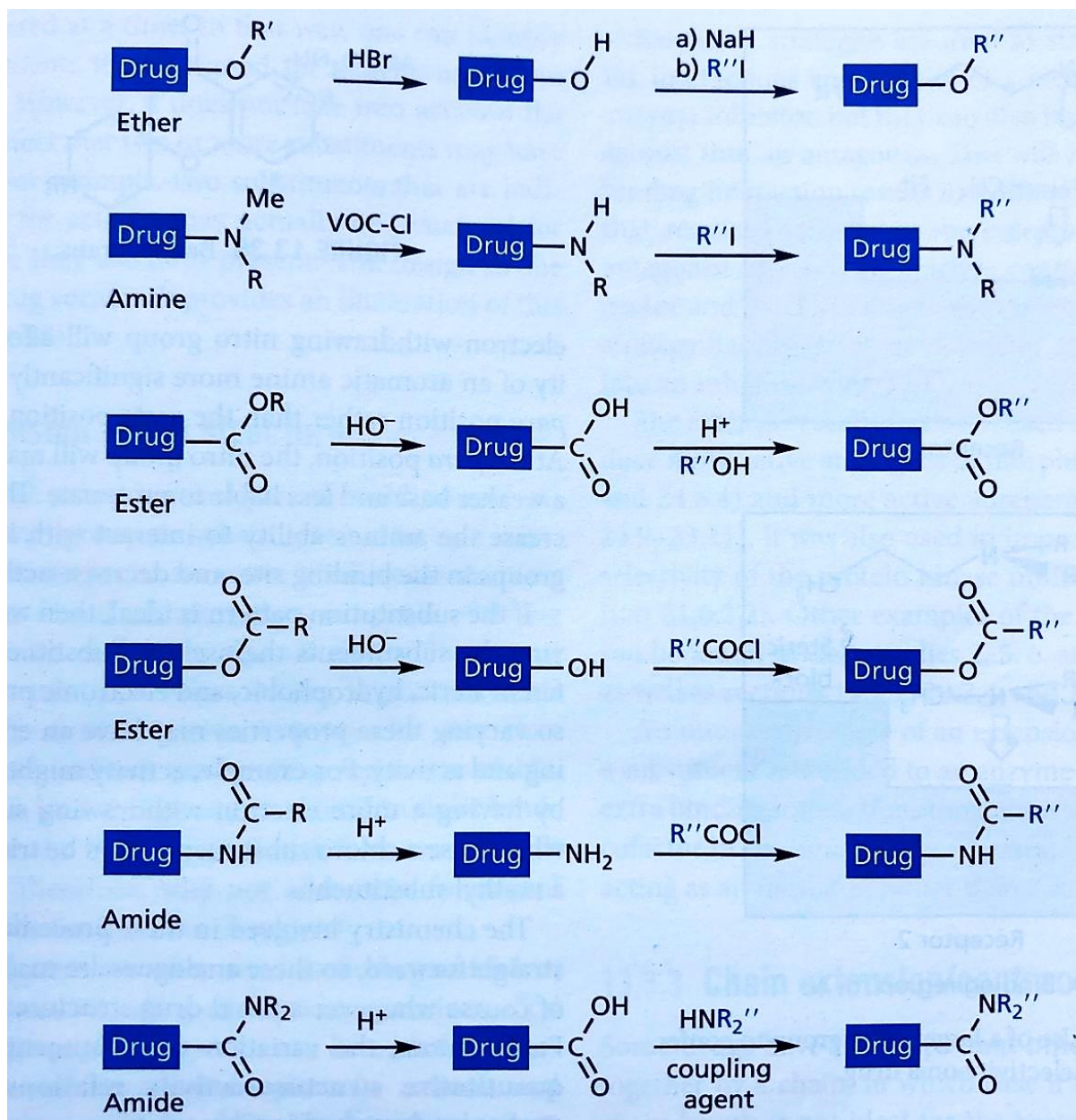
Variación de sustituyentes como sustituyentes de alquilo; ciertos sustituyentes son más fáciles de variar en comparación de otros (éteres, aminas, ésteres y amidas). Dichos sustituyentes pueden ser eliminados o sustituidos, al menos que estos formen parte del esqueleto de carbono de la molécula no se eliminan tan fácil, generalmente se lleva una serie de pasos. Si los grupos alquilo están interactuando con una bolsa hidrofóbica en el sitio de unión, la variación de longitud y volumen del alquilo permite explorar la profundidad y ancho de la bolsa. Elegir un sustituyente que llene la bolsa aumentará las interacciones de unión (Gareth, 2017, p. 236).

Figura 32. Variaciones en el grupo alquilo para llenar un pocket hidrofóbico



Fuente: Graham, 2017, p. 237

Figura 33. Ejemplos de sustitución en el grupo alquilo

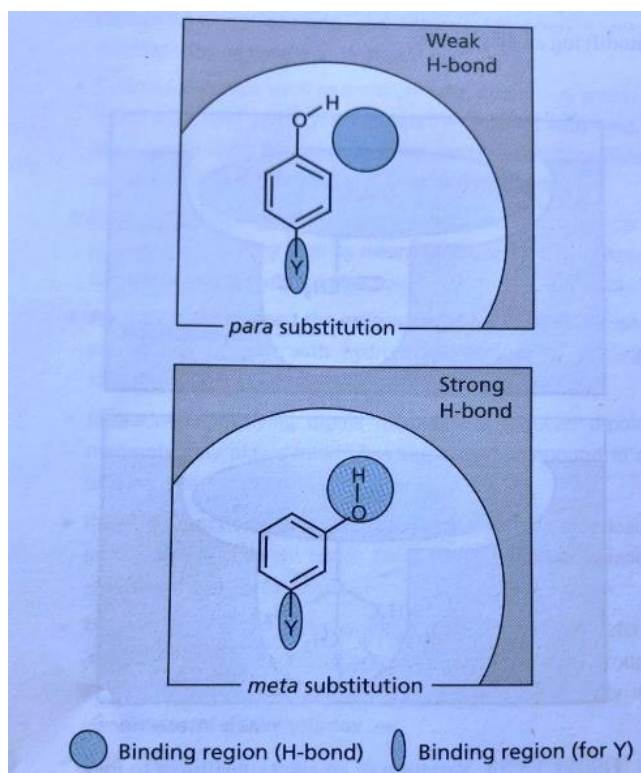


Fuente: Graham, 2017, p. 237

Sustituyentes en anillos aromáticos o heteroaromáticos; si un fármaco contiene un anillo, la posición de los sustituyentes puede variarse para encontrar mejores interacciones de unión, lo que resulta en una mayor actividad. El grupo nitro que retira electrones afecta la basicidad de una amina aromática más si está en la posición PARA, dicha posición hará que el grupo nitro haga que la amina sea una base más débil y menos susceptible de

protonar, esto disminuirá la capacidad de la amina para interactuar con los grupos de unión iónica en el sitio de unión y disminuiría su actividad. La actividad podría mejorarse teniendo un sustituyente que atraiga más electrones, en cuyo caso podría ser un grupo cloro en lugar de un sustituyente metilo (Gareth, 2017, p. 238).

Figura 34. Variaciones en la posición del sustituyente en el anillo aromático



Fuente: Graham, 2017, p. 237

Extensión de la estructura; dicha estrategia de la adición de otro grupo funcional o sustituyente al compuesto principal busca interacciones de unión adicionales con el objetivo. Las tácticas de extensión a menudo se usan para encontrar regiones hidrofóbicas adicionales en sitio de unión mediante la adición de grupos alquilo o arilaquilo, estos grupos pueden agregarse a grupos funcionales tales como alcoholes, fenoles, aminas, y ácidos carboxílicos, siempre que no interrumpa las interacciones de unión ya presentes. Variar el tamaño de un anillo también puede llevar a los sustituyentes a una buena posición para la unión (Gareth, 2017, p. 240).

Isósteres y bio-siósteres; algunos de estos se pueden usar para determinar la importancia del tamaño para la actividad mientras que otros se pueden usar para determinar la importancia de los factores electrónicos. Por ejemplo, el flúor se usa a menudo como isóster de hidrogeno, ya que es prácticamente del mismo tamaño, pero más electro-negativo y se puede usar para variar dichas propiedades electrónicas sin tener ningún efecto estérico. También la presencia de un enlace C-F puede interrumpir una reacción enzimática debido a que el enlace no se rompe tan fácilmente. El termino bioisóster se usa en el diseño de fármacos e incluye tanto los isósteres clásicos y no clásicos (Gareth, 2017, p.243).

Los autores Wermuth et al., (2015) en su libro *The Practice of Medicinal Chemistry* define el concepto de isosterismo como:

“El remplazo de un átomo o grupo de átomos en una molécula biológicamente activa por otro que presente las mismas propiedades fisicoquímicas se basan en el concepto de isosterismo. El concepto de isósteres fue ampliado por Grimm en 1925 con la declaración de la Ley de Desplazamiento de Hidruros y, más adelante, Erlenmeyer extendió la clasificación de Grimm que definía los isósteres como átomos, iones y moléculas en las que las capas periféricas de electrones pueden considerarse idénticas. La amplia aplicación del isosterismo para modificar una parte de una molécula biológicamente activa para obtener otra de actividad similar ha dado lugar al término de "bioisosterismo" o isosterismo no clásico”.

Figura 35. Bioisosterismo clásico

<b>Monovalent</b>	<b>Divalent</b>	<b>Trivalent</b>	<b>Tetravalent</b>
-OH, -NH <sub>2</sub> , -CH <sub>3</sub> , -OR	-CH <sub>2</sub> -	=CH-	=C=
-F, -Cl, -Br, -I, -SH, -PH <sub>2</sub>	-O-	=N-	=Si=
-Si <sub>3</sub> , -SR	-S-	=P-	=N <sup>+</sup> =
	-Se-	=As-	=P <sup>+</sup> =
	-Te-	=Sb-	=As <sup>+</sup> =
			=Sb <sup>+</sup> =

Fuente: Wermuth et al., 2015, p.187

Figura 36. Bioisosterismo no clásico

-CO-	-COOH	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-H	-CONH-	-COOR	-CONH <sub>2</sub>
-CO <sub>2</sub> -	-SO <sub>3</sub> H	-PO(OH)NH <sub>2</sub>	-F	-NHCO-	-ROCO-	-CSNH <sub>2</sub>
-SO <sub>2</sub> -	-tetrazole					
-SO <sub>2</sub> NR-	-SO <sub>2</sub> NHR		-OH		-catechol	
	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>		-CH <sub>2</sub> OH			
-CON-	-3-hydroxyisoxazole				-benzimidazole	
-CH(CN)-	-2-hydroxychromones		-NHCONH <sub>2</sub>			C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> S
R-S-R			-NH-CS-NH <sub>2</sub>			-C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N
(R-O-R)	=N-					-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
R-N(CN)-	C(CN)=R'		-NH-C(=CHNO <sub>2</sub> )-NH <sub>2</sub>			
			-NH-C(=CHCN)-NH <sub>2</sub>			
-halide						-C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> NH
	-CF <sub>3</sub>					
	-CN					
	-N(CN) <sub>2</sub>					
	-C(CN) <sub>3</sub>					

Fuente: Wermuth et al., 2015, p. 187.

Simplificación de la estructura; esta estrategia es utilizada más que todo en compuestos que surgen de fuentes naturales, una vez que se han identificado los grupos esenciales es posible descartar las partes esenciales de la estructura sin perder la actividad. Se considera eliminar grupos funcionales que no son parte del farmacóforo, simplificar el esqueleto de carbono (eliminar anillos, centros asimétricos). La ventaja de las estructuras más simples es que son fáciles, rápido y barato de sintetizar, al igual que eliminar los grupos funcionales innecesarios puede ser ventajoso para eliminar los efectos secundarios si estos grupos interactúan con otros objetivos o son químicamente reactivos (Gareth, 2017, pp. 244, 246).

## **Acoplamiento Molecular**

Según los autores Scior, Martínez & Salinas (2007) mencionan la definición de acoplamiento molecular como:

El acoplamiento molecular (docking) es un método computacional que busca formas de unión entre ligandos potenciales (fármaco) y un blanco cuya estructura es conocida experimentalmente, el acoplamiento molecular se aplica para encontrar la orientación y posición de un ligando en el sitio activo de su blanco molecular. El objetivo de la técnica consiste en encontrar la unión más probable entre el ligando y el receptor, es decir, la que menos energía requiera (a menor energía, más fuerte la unión) así como el sitio idóneo de unión molecular (p. 3).

Según la autora Font (2017) menciona:

“El modelado molecular es una técnica computacional que permite estudiar la interacción que existe entre un fármaco y su diana, mediante el empleo de programas informáticos que representen las estructuras y comportamiento de las moléculas. De esta forma, permite predecir si una molécula va a unirse a un receptor, y por lo tanto si puede ser un punto de partida para el diseño y síntesis de fármacos. El modelado molecular estudia la interacción entre un ligando y su receptor mediante el estudio de las fuerzas de unión entre ambas estructuras. Se considera que la unión entre un fármaco (F) y su receptor (R) como una reacción de asociación simple definida por La constante de asociación es más alta cuanto mayor es la energía que se libera en la interacción entre el fármaco y el receptor. En función del conocimiento de la estructura del fármaco y del receptor existen diferentes técnicas computacionales que se pueden aplicar para que el proceso de descubrimiento sea más sencillo” (p. 5).

Figura 37. Técnicas computacionales en función del conocimiento de la estructura del ligando y el receptor

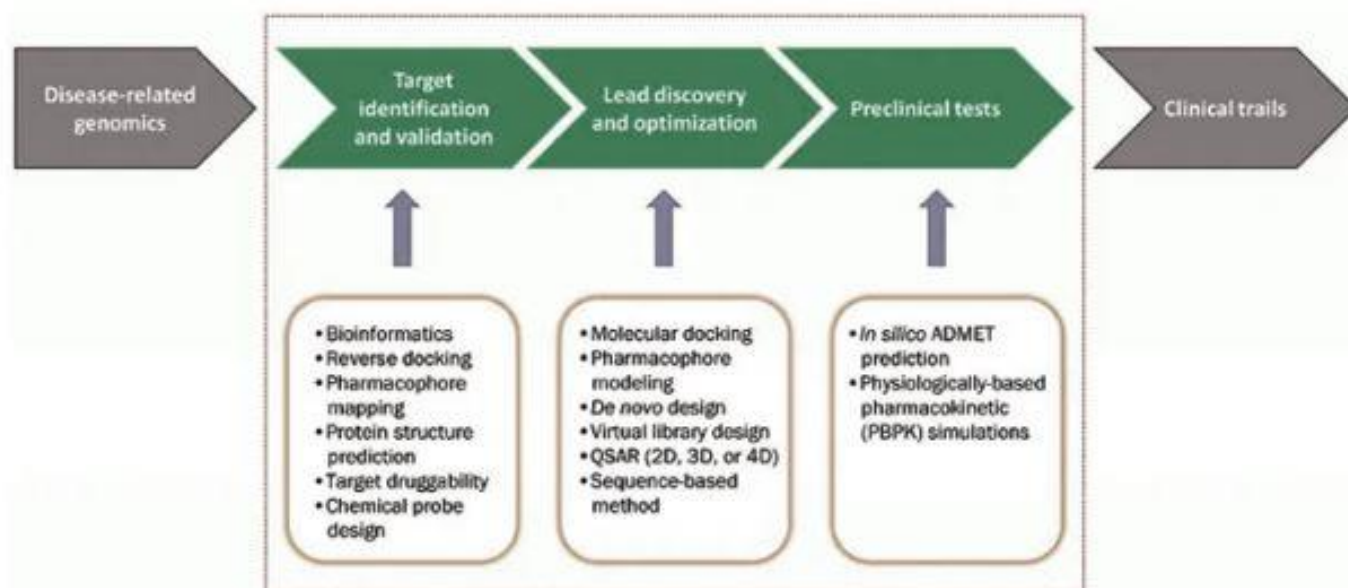
		ESTRUCTURA RECEPTOR	
		CONOCIDA	DESCONOCIDA
ESTRUCTURA DEL LIGANDO	CONOCIDA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Interacciones ligando-receptor</li> <li>• Dinámica molecular y técnicas de <i>docking</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Modelo de farmacóforos</li> <li>• Búsquedas 3D basadas en el ligando/farmacóforo</li> <li>• QSAR 2D y 3D</li> </ul>
	DESCONOCIDA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diseño de <i>novo</i></li> <li>• Búsquedas 3D basadas en el diseño</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Generar estructuras en 3D</li> <li>• Medidas de similitud y diversidad molecular</li> <li>• Química combinatoria</li> </ul>

Fuente: Font, 2017, p. 5.

Según los autores Ou-yang et al., (2012) mencionan:

“El diseño de medicamentos asistido por computadora (CADD) es uno de los métodos más efectivos para alcanzar dichos objetivos de optimización. El término CADD es un término ampliamente utilizado que representa herramientas y fuentes computacionales para el almacenamiento, gestión, análisis y modelado de compuestos. Los enfoques de descubrimiento de fármacos computacionales utilizados se pueden clasificar en diseño de fármacos basado en estructura (SBDD), diseño de fármacos basado en ligando (LBDD) y enfoques basados en secuencias. Los métodos SBDD, como el acoplamiento molecular y el diseño de fármacos de novo, estos se basan en el conocimiento de la estructura de la macromolécula diana, que se obtienen principalmente de estructuras cristalinas, datos de RMN y modelos de homología” (p. 1134).

Figura 38. Múltiples enfoques computacionales de descubrimiento de fármacos que se han aplicado en varias etapas del proceso de descubrimiento y desarrollo de fármacos.



Fuente: Ou-yang et al., 2012, p. 1927

Según los autores Lionta, Spyrou, Vassilatis, Cournia (2014), examinan diferentes procedimientos que van desde etapas iniciales del proceso (pre-procesamiento de receptores y bibliotecas) hasta el acoplamiento, la puntuación y el post-procesamiento. Y muestran mediante un esquema general una estrategia SBVS

El acoplamiento apunta a predecir la estructura del complejo ligando-proteína explorando el espacio conformacional de los ligandos dentro del sitio de unión de la proteína. Luego se utiliza una función de puntuación para aproximar la energía libre de unión entre la proteína y el ligando en cada pose de acoplamiento. El éxito de una campaña de SBVS depende en gran medida de estructuras iniciales razonables tanto para la proteína como para el ligando. Un archivo de estructura PDB típico consta solo de átomos pesados (si la entrada es una estructura de rayos X) y puede contener moléculas de agua, cofactores, activadores, ligandos e iones metálicos, así como varias subunidades de proteínas (p. 1933).

Además, la estructura generalmente no tiene información sobre órdenes de bonos, topologías o cargas atómicas formales. Los grupos amida terminales y los residuos de asparagina pueden estar mal arreglados ya que las estructuras de rayos X no pueden distinguir inequívocamente entre los grupos O y NH<sub>2</sub>. Los estados de ionización y tautómeros tampoco están asignados en la mayoría de los casos, pueden faltar cadenas laterales de residuos o bucles más grandes debido a la baja resolución de un área proteica particular, y pueden existir choques estéricos (Lionta et al., 2014, p. 1933).

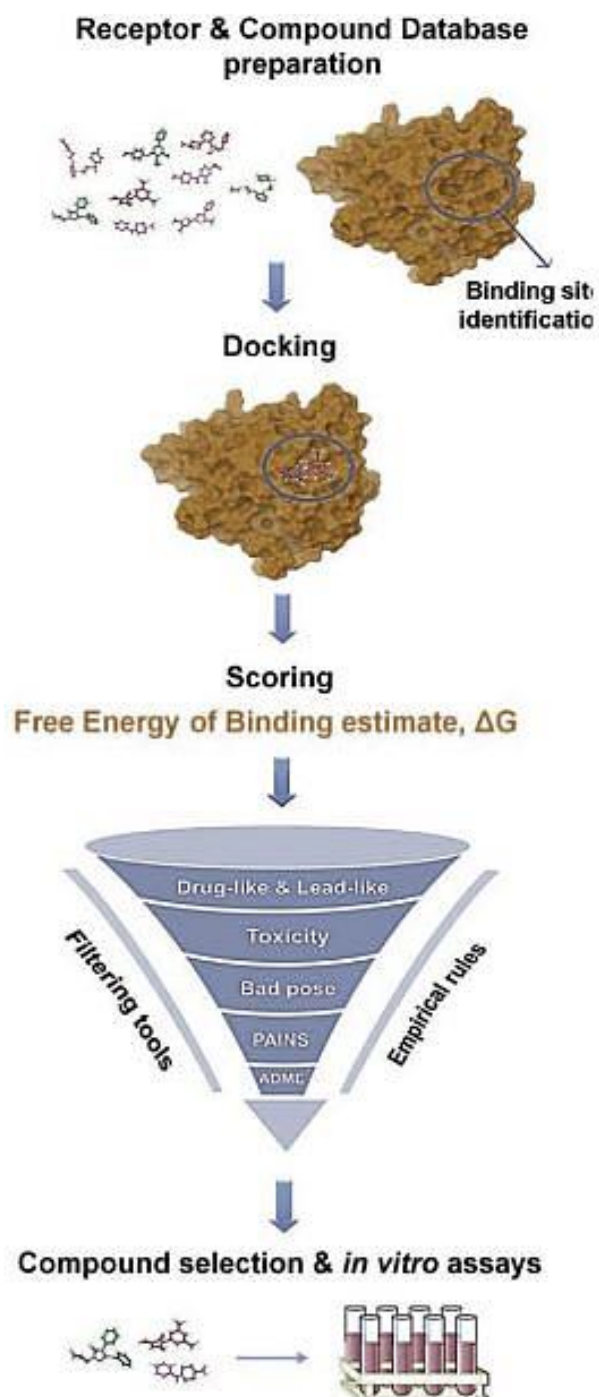
Para abordar de manera eficiente los problemas estructurales mencionados anteriormente, se han propuesto varios esquemas de preparación de proteínas. La estrategia general propuesta es determinar primero los estados de protonación de los aminoácidos de la proteína utilizando el software (PROPKA), el siguiente paso es asignar átomos de hidrogeno y optimizar los enlaces de hidrógeno de la proteína de acuerdo con una red óptima de enlaces de hidrógeno. Un software ampliamente utilizado para estas tareas es el software PDB2PQR (Lionta et al., 2014, p. 1933).

Se han aplicado varias reglas para garantizar la similitud de las drogas siendo la más popular la regla de los cinco de Lipinski, pero a medida que cada vez más compuestos rompen algunas de estas reglas y entran al mercado (por ejemplo, las drogas de productos naturales), Una regla más reciente que explica las propiedades fisicoquímicas relacionadas con los resultados de toxicología preclínica es la "Regla de Pfizer de 3/75", que se basa en los valores del coeficiente de partición calculado (ClogP) y el área de superficie polar topológica (TPSA). De acuerdo con esta regla, los compuestos con ClogP inferior a 3 y TPSA superior a 75 tienen aproximadamente 2.5 veces más probabilidades de ser seguros en ensayos *in vivo* (Lionta et al., 2014, p. 1934).

El acoplamiento implica predecir la estructura del complejo proteína-ligando y es seguido por una puntuación en SBVS para clasificar los compuestos. Los programas de acoplamiento utilizan varios métodos de búsqueda conformacional para explorar el espacio conformacional del ligando; estos se clasifican de la siguiente manera: a) Métodos sistemáticos, que colocan ligandos en el sitio de unión previsto después de considerar todos los grados de libertad, b) Búsquedas torsionales aleatorias o estocásticas sobre enlaces

rotativos, como Monte Carlo y algoritmos genéticos para "evolucionar" bajo conformadores de energía, (c) Métodos de simulación de dinámica molecular y minimización de energía para explorar el paisaje energético de una molécula (Lionta et al., 2014, p. 1937).

Figura 39. Esquema de una estrategia SBVS



Fuente: Lionta et al., 2014, p. 1925

Según los autores Kar y Roy 2013, mencionan los principales errores, trampas técnicas y advertencias que hay que tomar en cuenta en la detección virtual (VS)

Existen muchas obstrucciones que se interponen en el diseño de un nuevo compuesto farmacológico para una molécula farmacológica final. Los enlaces de hidrógeno mediados por el agua pueden tenerse en cuenta en la detección virtual, pero es muy difícil predecir el número exacto y la posición de estas interacciones. De igual manera los enfoques de detección virtual basados en estructura del ligando tiene el inconveniente que no puede identificar ligando bioactivos para los bolsillos de unión que no están acoplados explícitamente. Muchos enfoques de detección virtual se basan en compuestos “Drug Likeness” como las define Lipinski en su trabajo.

Sin embargo, debe tenerse en cuenta que esto solo se aplica a la bio-disponibilidad oral y que muchas clases de bioactividad, como los antisépticos, caen rutinariamente fuera del alcance de esta regla. Por lo tanto, los protocolos detección virtual generalmente se aplican y validan en una fracción relativamente, pequeña del espacio químico. Hay al menos tres características que son dependientes del contexto que tenga el proceso VS i) forma tautomérica, donde la selección de un tautómero incorrecto puede desviar la asignación de los receptores o donantes de enlaces de hidrógeno (HBA), ii) ionización, donde el estado de protonación de los grupos químicos a pH fisiológicamente relevante puede calcularse erróneamente y iii) la quiralidad, donde para las estructuras racémicas se necesita calcular las conformaciones para todas las configuraciones quirales posibles (Kay y Roy, 2013, p. 253).

Uno de los principales desafíos en 3D VS es el generar un conjunto manejable de conformaciones que cubran adecuadamente el espacio conformacional de la molécula, de hecho, no solo los ligandos sino los objetivos biológicos también son flexibles y la flexibilidad proteica es probablemente el aspecto más inexplorado de VS. Otro problema común pero grave es el error introducido al interconvertir diferentes formatos moleculares. A menudo ocurre que la información puede perderse o alterarse al convertir un formato de archivo a otro (Kay y Roy, 2013, pp. 254-255).

## Filtros de “druglikeness” Lipinski, Ghose, Muegge y Veber

Tabla 2 Definiciones de los filtros

Lipinski	<p>La regla de los 5 de Lipinski se encarga de estudiar el peso molecular, el LogP y los donadores y aceptores de hidrógenos.</p> <p>Masa molar: menor a 500 Da</p> <p>Log P: menor a 5</p> <p>Aceptores H: menos 10</p> <p>Donadores H: menos 5</p> <p>(Lipinski Lombardo, Dominy y Feeney, 2001).</p>
Ghose	<p>El filtro de Ghose se encarga del estudio de LogP, peso molecular, la refractividad molar y el número total de átomos. Es el filtro más estricto en cuanto a los rangos de los parámetros físico-químicos.</p> <p>Masa molar: 160-480 Da (rango preferencia 230-390 Da)</p> <p>Log P: -0,4- 5,6 (rango de preferencia de 1,3 a 4,1)</p> <p>Refractividad molar: 40-130 (rango de preferencia 70-110)</p> <p>(Ghose, Viswanadhan y Wendoloski, 1999).</p>
Muegge	<p>El filtro de Muegge se encarga del estudio del peso molecular, la cantidad de anillos, los átomos de carbono, el LogP, los aceptores y donares de hidrogeno, los enlaces rotables y el área polar superficial.</p> <p>Masa molar: 200-600 Da</p> <p>Log P: -2-5</p> <p>Área polar superficial: menor a 150 Å</p> <p>Aceptor de H: menos de 10</p> <p>Donadores de H: menos de 5</p> <p>Enlaces rotables: menos de 15</p> <p>Cantidad de anillos: menos de 7</p> <p>(Muegge, 2003).</p>

Veber	<p>El filtro Veber se encarga del estudio de enlaces rotables, el área polar superficial y los donares o aceptores de hidrógeno sugiere que es de importancia analizar la bio-disponibilidad oral de un medicamento en dependencia a la masa molecular.</p> <p>Área polar superficial: menor a 140 Å</p> <p>Aceptores y donadores de H: menos 12</p> <p>Enlaces rotables menos de 10</p> <p>(Veber, Johnson, Cheng, Smith, Ward y Kopple, 2002).</p>
<p>Graham</p> <p>Filtro proporcionado por el autor en el libro: An Introduction of Medicinal Chemistry</p>	<p>El filtro de Graham, destaca la regla de los 3</p> <p>Un peso molecular inferior a 300</p> <p>No más de 3 donantes de hidrogeno</p> <p>No más de 3 aceptores de enlaces de hidrogeno</p> <p>No más de 3 enlaces rotatorios</p> <p>Un área superficial polar no más de 60 Å<sup>2</sup></p> <p>(Graham, 2017, p. 220)</p>

Fuente: Elaboración propia

### **CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO**

En este capítulo se pretende describir la metodología utilizada para desarrollar la investigación del tema, así como los análisis elaborados y los métodos, técnicas y procedimientos que acompañaron la elaboración de los análogos.

#### **Enfoque de la investigación**

La presente investigación muestra un enfoque mixto, la parte cualitativa se ve reflejada en la explicación del modo de acción antimicrobiano de la clorhexidina y su respectivo uso como antiséptico en la medida de prevención en infecciones nosocomiales y realizar la debida revisión bibliográfica de artículos científicos, de fuentes confiables que nos lleve a dichos objetivos. Por otro lado, se dice que la investigación cuenta con enfoque cuantitativo ya que se van a producir análogos de la molécula de clorhexidina y analizar las propiedades fisicoquímicas de las moléculas bajo estudio, junto con un análisis molecular, asimismo examinar los resultados que arrojen las pruebas del acoplamiento molecular y explicar dichos resultados obtenidos.

La investigación posee un enfoque cualitativo según Hernández, Fernández y Baptista (2014), menciona que estas se utiliza la recolección y análisis de los datos para afinar las preguntas de investigación o revelar nuevas interrogantes en el proceso de interpretación, los estudios cualitativos pueden desarrollar preguntas e hipótesis antes, durante o después de la recolección y el análisis de los datos. Este busca principalmente la “dispersión o expansión” de los datos e información. (p.7-10).

Con respecto al enfoque cuantitativo, Hernández, Fernández y Baptista (2014), afirman que un enfoque cuantitativo utiliza la recolección de datos para probar hipótesis con base en la medición numérica y el análisis estadístico, con el fin de establecer pautas de comportamiento y probar teorías, además representa un conjunto de procesos en la cual cada etapa precede a la siguiente y no se puede brincar o eludir pasos. (p.4).

#### **Diseño de la investigación**

Según Hernández, Fernández, Baptista (2014) un "diseño explicativo secuencial es aquel va más allá de la descripción de conceptos o fenómenos o del establecimiento de relaciones entre conceptos; es decir, están dirigidos a responder por las causas de los

eventos y fenómenos físicos o sociales. Como su nombre lo indica, su interés se centra en explicar por qué ocurre un fenómeno y en qué condiciones se manifiesta o por qué se relacionan dos o más variables"(p.95).

Al ser un diseño experimental los autores Veiga de Cabo *et al.* (2008) mencionan " el investigador también trata de estudiar algún factor desconocido y sus efectos en el tiempo, pero al contrario de lo que ocurre en los estudios observacionales analíticos, que reproducen el fenómeno de forma natural, en los estudios experimentales el investigador define cada una de las características de los grupos, asignando a un grupo de estudio el tratamiento, tóxico, prueba diagnóstica, factor de riesgo, o lo que se pretenda estudiar, y al grupo control el placebo o su equivalente. (p.82).

La investigación posee dos tipos de diseños, en este caso el experimental va ir más centrado en la producción de análogos por lo cual se va a estudiar un factor desconocido, aunque se va a tomar en cuenta el mecanismo de acción antimicrobiano de la molécula original de clorhexidina y como esta logra la disrupción de la membrana de los microorganismos de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* y en base a esto proponer una nueva molécula que sea más potente para dicho objetivo y el explicativo secuencial va a manifestar conceptos básicos de las propiedades fisicoquímicas de las moléculas bajo estudio y además de explicar causas y fenómenos relacionados con la técnica de anclaje molecular y los resultados obtenidos.

### **Objeto de estudio**

La investigación pretende producir análogos de clorhexidina y evaluar por medio de programas computacionales cuál de todos los análogos elaborados (Anexo 1) es más selectivo (hit), hacia su diana molecular, la membrana bacteriana de microorganismos causantes de infecciones nosocomiales frecuentes (*E. coli* y *P. aeruginosa*).

### **Fuentes de Información**

En este apartado se hace referencia a todas las fuentes de información y programas computacionales que se utilizaron para desarrollar la investigación. Para los primeros dos objetivos específicos que tienen un fundamento teórico se basó en obtener artículos

científicos de fuentes bibliográficas confiables (Scielo, Redalyc, Dialnet y Ebsco) y por medio de los artículos seleccionados desarrollar la discusión de los objetivos. Para el tercer objetivo que consta en la elaboración de los análogos se manejaron bases de datos como Pubchem (Biblioteca Nacional de Medicina de EE. UU), Drugbank (OMx Personal Health Analytics, Inc. Diseñado por Educe Design & Innovation Inc) y Protein Data Bank (PDB) National Science Foundation, el Departamento de Energía de los EE. UU, el Instituto Nacional del Cáncer, el Instituto Nacional de Alergias y Enfermedades Infecciosas). También se manejaron datos obtenidos por medio de herramientas virtuales y softwares como Marvin Sketch (ChemAxon 2014), UCSF Chimera (Universidad de California San Francisco, Diciembre 2016), Open Babel (OpenBabelGUI 2006 by Chris Morley, versión 2.4.1), SwissADME (Instituto Suizo de Bioinformática 2019), PyRx (Python Prescription, 2010, versión 0.8).

### **Criterios de inclusión y exclusión**

Para la presente investigación, se realizó una revisión bibliográfica de artículos de revistas científicas, libros y trabajos finales de graduación, en inglés o español. Los temas de los artículos son específicamente sobre el mecanismo de acción de la molécula de clorhexidina sobre microorganismos a nivel hospitalario, más que todo aquellas que son bacterias Gram negativas, al igual que las generalidades de las mismas a nivel estructural. Además, se busca explicar el correcto uso de la clorhexidina como antiséptico y las correctas técnicas de asepsia que llevan a la prevención de infecciones nosocomiales causadas por estos agentes bacterianos. No se escatimó en la fecha de publicación de los artículos de revistas científicas, libros o trabajos finales de graduación seleccionados debido a que, con el paso del tiempo, quedó evidenciado que la molécula de clorhexidina sigue siendo efectiva para sus usos, lo cuales ha sido descritos a lo largo del tiempo. Se excluyeron todos los demás artículos que no abarcan con el tema de la investigación.

### Categoría de Análisis

Tabla 3. Cuadro de codificación: Investigación con Enfoque Cualitativo

Objetivo	Categoría de Análisis	Definición Conceptual	Instrumento
<p>Analizar la acción antimicrobiana de la molécula de clorhexidina sobre diferentes microorganismos a nivel intrahospitalario</p>	<p>Acción Antimicrobiana</p>	<p>La actividad antimicrobiana es atribuida a su unión y disrupción de la membrana citoplásmica, que alteran el equilibrio osmótico y causan precipitación de los contenidos celulares. (Maya, Jamil, Pacheco, Liliana, Virginia (2011), p.98)</p>	<p>Referencias bibliográficas</p>
<p>Explicar el uso de los antisépticos especialmente de la clorhexidina en pacientes e instrumentos médicos para la prevención de infecciones en el ámbito hospitalario.</p>	<p>Uso de los antisépticos</p>	<p>Un antiséptico cuando se aplica sobre superficies del cuerpo o en tejidos expuestos, destruye o inhibe el crecimiento de microorganismos en tejidos vivos, sin causar efectos lesivos. Algunos antisépticos se aplican sobre piel intacta o membranas mucosas, quemaduras y heridas abiertas para prevenir la sepsis al desbridar o excluir los microbios de estas áreas. (OMS (2004), p.270)</p>	<p>Referencias bibliográficas</p>

## Variable de Análisis

Tabla 4. Cuadro de codificación: Investigación con Enfoque Cuantitativo

Objetivos	Variable	Definición Conceptual	Indicador	Instrumento
Crear diferentes análogos de clorhexidina para la acción antimicrobiana contra las cepas de E. coli y P. aeruginosa mediante programas computacionales	Análogos mediante modelado molecular	El modelado molecular es una técnica computacional que permite estudiar la interacción que existe entre un ligando y su diana, mediante el empleo de programas informáticos que representen las estructuras y comportamiento. (Font (2017), p.5)	Energía de unión con la diana ( $\Delta G$ )	Software utilizado para realizar el anclaje o docking que nos permite encontrar el mejor acople entre la diana y el ligando, mediante la actividad $\Delta G$ PyRx

## Instrumentos

Para esta investigación, los resultados se obtienen de fuentes bibliográficas que ayudaron al investigador a recaudar información para darle fundamento a varias interrogantes surgidas durante el proceso y por medio de técnicas virtuales para desarrollar los análogos y aplicaciones virtuales que permiten analizar diversas propiedades fisicoquímicas tanto de la molécula original como de los análogos, las cuales llevaron a seleccionar los tres mejores análogos, los cuales se discuten en el capítulo de análisis de resultados (tabla #8 #9 #10).

## **Procedimiento de recolección y análisis de los datos**

Para los primeros dos objetivos de la presente investigación se procedió con la reunión de artículos científicos de fuentes confiables (Scielo, Redalyc, Dialnet y Ebsco), sin escatimar en la fecha de publicación de los artículos, ya que entre más viejo sea el artículo y mencione el uso de la clorhexidina como un antiséptico seguro y eficaz, afirma que la molécula cuenta con un historial de seguridad que se ha mantenido a lo largo de los años y con los artículos modernos se prueba que la molécula de clorhexidina no ha perdido su efecto antimicrobiano con los años, es decir no se ha notificado un aumento de resistencia microbiana significativa que demuestre la ineficaz de la misma para sus usos. Al contrario, se ha demostrado que la molécula de clorhexidina sigue teniendo una actividad antimicrobiana activa contra microorganismos frecuentes en el ámbito hospitalario causantes de infecciones nosocomiales.

El tercer objetivo de este trabajo de investigación es la elaboración de los análogos de clorhexidina y evaluar cuál de estos es más selectivo hacia su diana molecular, para esto se partió primeramente de la obtención de la molécula original de clorhexidina de la base de datos PubChem, código (PubChemCID: 9552079) y se guardó el modelo de la estructura molecular en formato SDF o PDB. Seguidamente se importa la molécula en el programa Marvin Sketch para proceder a realizarle una limpieza en 3D y guardarla en formato PDB.

Posteriormente, el ligando se importa en el programa Chimera, para su limpieza de iones, ligandos, agua y otros solventes. “Dock prep” implementada en el programa UCSF-Chimera se procede a preparar cada ligando.

Posteriormente se obtiene el modelo de las estructuras moleculares de las macromoléculas (fosfatoetanolamina (PE), fosfatoglicerol (PG) y cardiolipina (CA)), en una base de datos, Protein Data Bank, las macromoléculas se descargan en formato PDB y se usa el programa USSF-Chimera para su posterior visualización y preparación de la misma, la cual consta de una limpieza de iones, ligandos, agua y posibles solventes y prepararla con el mismo procedimiento de Dock prep que se realizó al ligando.

A continuación, se realiza el acoplamiento molecular entre el ligando y la diana utilizando AutoDock-VINA implementado en el programa PyRx. Esta herramienta permite calcular cambios en energía libre de Gibbs para el proceso de unión de un ligando con una diana molecular. Entre menor sea este cambio en energía ( $\Delta G < 0$ ) el proceso de unión será más exergónico, lo que se considera termodinámicamente favorable, y por lo tanto, se considera un estado de mayor afinidad.

Cabe mencionar que cada vez que uno realiza un acoplamiento con la herramienta PyRx este va a guardar la mejor predicción de energía de manera automática. Pero este resultado generado no se puede observar si no hasta convertir su respectivo formato de PDBQT a PDB, esto se logra con la herramienta Open Babel.

Ya que la herramienta UCSF-Chimera realiza la visualización de los resultados del anclaje molecular para observar cuales grupos funcionales del ligando interactúan con que grupos funcionales de la macromolécula, utilizando la herramienta Find clashes/contacts implementada en UCSF-Chimera.

El análisis fisicoquímico de la molécula original de clorhexidina se realizó con la herramienta SwissADME, la cual arroja entre sus parámetros (Peso molecular, # enlaces rotables, aceptores y donadores de H, Refractividad molar, Área polar superficial, Log P, Log S Delaney, Log Kp) y filtros de Lipinski, Ghose, Muegge y Veber, exhiben las violaciones que presentan la molécula a los filtros mencionados. Todas las propiedades obtenidas por esta aplicación fueron tomadas en cuenta para la elaboración de los análogos, con el objetivo de mejorarlas y así determinar cuáles análogos presentaban los mejores resultados de energía con su diana.

La elaboración de los análogos fue llevada a cabo mediante la herramienta Marvin Sketch y se repitieron todos los pasos mencionados anteriormente para el ligando original.

## Herramientas computacionales

Las herramientas utilizadas para el diseño de análogos fueron:

PubChem es una base de datos de química abierta en los Institutos Nacionales de la Salud (NIH). "Abierto" significa que puede poner sus datos científicos en PubChem y que otros pueden usarlos. PubChem contiene principalmente moléculas pequeñas, pero también moléculas más grandes como nucleótidos, carbohidratos, lípidos, péptidos y macromoléculas modificadas químicamente. Recopilan información sobre estructuras químicas, identificadores, propiedades químicas y físicas, actividades biológicas, patentes, datos de salud, seguridad, toxicidad y muchos otros. El objetivo de una base de datos tan extensa es resumir los datos relevantes para un gen biológico o proteína diana determinada. PubChem contiene cientos de millones de resultados de bioactividad de más de un millón de experimentos de bioensayos. Muchas de esas sustancias son probadas contra objetivos biológicos. (Biblioteca Nacional de Medicina de EE. UU).

Drug Bank es una base de datos completa, de acceso libre y en línea, que contiene información sobre medicamentos y sus objetivos. Al igual que un recurso de bioinformática y de quimio informática, DrugBank combina datos detallados de medicamentos (es decir, químicos, farmacológicos y farmacéuticos) con información completa sobre el objetivo del medicamento (es decir, secuencia, estructura y vía). Debido a su amplio alcance, referencias completas y descripciones de datos inusualmente detalladas, DrugBank es más parecido a una enciclopedia de medicamentos que a una base de datos de medicamentos (DrugBank, versión 5.1.3, 2019).

DrugBank es ampliamente utilizado por la industria farmacéutica, los químicos farmacéuticos, los farmacéuticos, los médicos, los estudiantes y el público en general. La última versión de DrugBank (versión 5.1.3, publicada el 2019-04-02) contiene 12,150 entradas de medicamentos que incluyen 2,557 medicamentos de molécula pequeña aprobados, 1,286 medicamentos de biotecnología (proteína / péptido) aprobados, 130 nutracéuticos y más de 5,867 medicamentos experimentales. Además, 5.169 secuencias de proteínas no redundantes (es decir, diana del fármaco / enzima / transportador / portador) están vinculadas a estas entradas de fármacos. Este proyecto cuenta con el apoyo de los Institutos Canadienses de Investigación en Salud (premio n. ° 111062), Alberta Innovates -

Health Solutions y The Metabolomics Innovation Center (TMIC), un centro de investigación y centro financiado con fondos nacionales que admite una amplia gama de tecnología de punta. estudios metabolomicos. TMIC está financiado por Genome Alberta, Genome British Columbia y Genome Canada. Una organización sin fines de lucro que lidera la estrategia nacional de genómica de Canadá con fondos del gobierno federal. El mantenimiento, el soporte y las licencias comerciales son proporcionados por OMx Personal Health Analytics, Inc. Diseñado por Educe Design & Innovation Inc (DrugBank, versión 5.1.3, 2019).

La herramienta web SwissADME que ofrece acceso gratuito a un conjunto de modelos predictivos rápidos y robustos para parámetros ADME, propiedades farmacocinéticas, fisicoquímicas, naturaleza farmacológica similitud de fármacos y química medicinal, entre los que se incluyen métodos competentes en la casa, como el huevo hervido. iLOGP y radar de biodisponibilidad, Este sitio web le permite calcular descriptores fisicoquímicos, así como predecir relación química de una o varias moléculas pequeñas para apoyar el descubrimiento de fármacos (Instituto Suizo de Bioinformática 2019).

El Protein Data Bank (PDB) se estableció como el primer recurso de datos digitales de acceso abierto en toda la biología y la medicina. A través de un portal de información de Internet y un archivo de datos descargable, el PDB proporciona acceso a datos de estructura 3D para moléculas biológicas grandes (proteínas, ADN y ARN). Estas son las moléculas de la vida, que se encuentran en todos los organismos del planeta. La visión del RCSB PDB es permitir el acceso abierto al conocimiento acumulado de la estructura, función y evolución de las macromoléculas en 3D, expandiendo las fronteras de la biología fundamental, la biomedicina y la biotecnología (RCSB PDB está financiado por la National Science Foundation (DBI-1832184), el Departamento de Energía de los EE. UU. (DE-SC0019749) y el Instituto Nacional del Cáncer , el Instituto Nacional de Alergias y Enfermedades Infecciosas , y el Instituto Nacional de Ciencias Médicas Generales del National Institutes of Health bajo concesión R01GM133198).

Marvin Sketch es un editor de moléculas (es un programa de computadora para crear y modificar representaciones de estructuras químicas. Marvin Sketch presenta un amplio conjunto de funcionalidades para permitir el dibujo rápido y preciso de compuestos

químicos, reacciones, estructuras de Markush y moléculas de consulta. Además, MarvinSketch tiene una estructura incorporada y comprobadores de valencia para proporcionar orientación, y calculadoras de propiedades integradas para obtener resultados en vivo, a solicitud suya. MarvinSketch no solo traduce la química en un entorno digital, sino que también admite la más amplia selección de formatos de archivos químicos estándar reconocidos industrialmente. Para el dibujo químico en la web, consulte también nuestro componente de navegador Marvin JS. MarvinView es un visor químico avanzado para estructuras químicas, consultas, reacciones y sus datos asociados simples y múltiples en 2D / 3D. Este renderizador liviano puede mostrar incluso miles de moléculas en una vista de matriz u hoja de cálculo junto con los campos calculados sobre la marcha, como el nombre de la molécula, el nombre IUPAC generado y las cadenas SMILES (ChemAxon, 2014).

UCSF Chimera es un programa altamente extensible para visualización interactiva y análisis de estructuras moleculares y datos relacionados, incluidos mapas de densidad, conjuntos supramoleculares, alineamientos de secuencias, resultados de acoplamiento, trayectorias y conjuntos conformacionales. Imágenes de alta calidad y animaciones pueden ser generadas. Las herramientas de RBVI (Recurso para Biocomputación, Visualización e Informática) pueden aplicarse a diversos tipos de datos biomoleculares, incluidas coordenadas de resolución atómica, mapas de densidad 3D y datos de microscopía de luz, y secuencias, anotaciones y redes de proteínas y ácidos nucleicos (Universidad de California San Francisco, Diciembre 2016).

Open Babel es una caja de herramientas para químicos diseñada para hablar los diferentes lenguajes de datos químicos. Es un proyecto abierto y colaborativo que permite a cualquier persona buscar, convertir, analizar o almacenar datos de modelado molecular, química, materiales de estado sólido, bioquímica o áreas relacionadas. Eso significa que Open Babel tiene dos piezas principales: Programas listos para usar para interconvertir, buscar, modificar y analizar archivos químicos Un completo juego de herramientas para programadores para permitir el desarrollo de software de química fácil (OpenBabelGUI 2006 by Chris Morley, versión 2.4.1).

PyRx es un software de detección virtual para el descubrimiento computacional de medicamentos que se puede usar para seleccionar bibliotecas de compuestos contra posibles objetivos de medicamentos. PyRx permite que Medicinal chemists ejecute la evaluación virtual desde cualquier plataforma y ayuda a los usuarios en cada paso de este proceso, desde la preparación de los datos hasta el envío de trabajos y el análisis de los resultados. Si bien es cierto que no hay un botón mágico en el proceso de descubrimiento de medicamentos, PyRx incluye un asistente de acoplamiento con una interfaz de usuario fácil de usar que lo convierte en una herramienta valiosa para el diseño de medicamentos asistido por computadora. PyRx también incluye una funcionalidad similar a una hoja de cálculo química y un potente motor de visualización que son esenciales para el diseño de fármacos basado en la estructura. PyRx está utilizando una gran cantidad de software de código abierto establecido que incluye los siguientes softwares (Python Prescription, 2010, versión 0.8).

Tabla 5. Softwares que PyRx utiliza de código abierto.

Auto Dock 4 y Auto Dock Vina	Se utilizan como software de acoplamiento.
Auto Dock Tools	Utilizado para generar archivos de entrada
Python	Utilizado para generar archivos de entrada y lenguaje de programación / scripting.
wxPython	Utilizado para GUI multiplataforma
Kitware, Inc (VTK)	El Kit de herramientas de visualización
Enthought Tool Suite	Utilizado como rasgo, para bloques de construcción de aplicaciones.
Opal Toolkit	Utilizado para ejecutar Auto Dock de forma remota utilizando servicios web.
Open Babel	Utilizado para importar archivos SDF, eliminar sales y minimizar la energía
Matplotlib	Utilizado para el trazado 2D.

Fuente: Elaboración propia.

## CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

En el siguiente capítulo se expondrán los resultados obtenidos durante el proceso de investigación, los cuales comprenden un análisis de la acción antimicrobiana de la clorhexidina, además de explicar el uso adecuado de este antiséptico en pacientes e instrumentos médicos usados para la prevención de infecciones. Finalmente se llevará a cabo un análisis de las propiedades fisicoquímicas de la molécula original de clorhexidina junto con la verificación del cumplimiento de los parámetros proporcionados por los filtros de Lipinski, Ghose, Muegge y Veber (Tabla # 10) y concluyendo con la explicación que dio origen a la creación de los mejores 3 análogos (Tablas # 11, # 12 y # 13) creados a partir de la molécula original de clorhexidina, cabe destacar que se realizaron un total de 51 análogos, los cuales fueron probados hacia sus dianas moleculares, obteniendo diversas energías de unión (Anexo 1).

### **Acción anti-microbiana**

Primeramente, Maya *et al.* (2011), mencionan que la clorhexidina es ampliamente activa contra bacterias Gram positivas, Gram negativas, anaerobias facultativas y aerobias, y, en menor medida contra hongos y levaduras. Tiene escasa actividad contra *Mycobacterium tuberculosis* y no es esporicida. Una de sus características más sobresalientes es su actividad in vitro contra virus encapsulados, tales como el herpes simple, el VIH, el citomegalovirus, el de la influenza y el virus sincitial respiratorio, aunque presenta menor actividad contra virus no encapsulados.

Una característica que presentan los autores, es la actividad residual que posee la molécula la cual es de seis horas a diferencia de la povidona yodada cuya actividad es menor de cuatro horas y la actividad antimicrobiana se ve mínimamente afectada por material orgánico como la sangre. Por otro lado, debe tenerse en cuenta que, al ser una molécula catiónica, su actividad puede verse reducida por jabones naturales, aniones inorgánicos, surfactantes no iónicos y cremas de manos que contengan agentes anicónicos que puedan reaccionar con la parte catiónica de la molécula y esta no pueda llegar a producir su acción anti-microbiana (Maya *et al.* 2011)

Según Martínez (2013) la molécula de clorhexidina es poco soluble en el agua, por lo que se utiliza bajo forma de sales (diacetato, diclorhidrato, digluconato). De estas tres, el digluconato es la más soluble en agua y alcoholes. Su mecanismo recae en la acción con los grupos aniónicos de la superficie bacteriana, alterando la permeabilidad. La autora hace énfasis en que la actividad antiséptica de la clorhexidina es superior a la de la povidona, del alcohol y el hexa-clorofeno. Es un antiséptico tópico ideal, debido a su persistente actividad sobre la piel con el uso continuo, un efecto muy rápido y una mínima absorción, aunque se han asociado algunas reacciones alérgicas al tratamiento tópico con clorhexidina. A bajas concentraciones, la clorhexidina exhibe un efecto bacteriostático, mientras que a altas concentraciones es bactericida (p. 17).

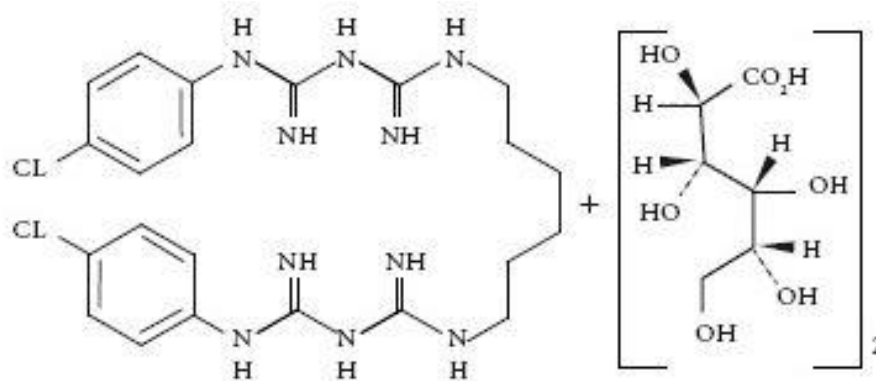
La clorhexidina es buena a temperatura ambiente y a un pH comprendido entre 5 y 8, pero muy inestable en solución. Además, la clorhexidina necesita ser protegida de la luz y el calor, ya que es fotosensible. Los siguientes microorganismos muestran una alta susceptibilidad a la clorhexidina: *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Cándida albicans*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, y bacterias anaeróbicas. Las cepas de *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* muestran una baja susceptibilidad a la clorhexidina. Los estudios clínicos han demostrado que no hay un aumento significativo de la resistencia bacteriana ni desarrollo de infecciones oportunistas durante el tratamiento a largo plazo con clorhexidina (Martínez, 2013, p. 18).

Por otro lado, Diomedi et al. (2017) nos dicen que la clorhexidina es compatible con derivados catiónicos como los amonios cuaternarios, pero incompatible con tensioactivos aniónicos y variable compatibilidad con colorantes, además de formar sales solubles con nitratos, sulfatos, carbonatos y fosfatos. De su mecanismo de acción, se ha demostrado que su absorción ocurre por difusión pasiva a través de las membranas celulares, la que es muy rápida tanto en bacterias como en levaduras, consiguiéndose importante efecto ya a los 20 segundos. A bajas concentraciones produce una alteración de la permeabilidad osmótica de la membrana y una inhibición de enzimas del espacio periplásmico. A concentraciones elevadas origina la precipitación de proteínas y ácidos nucleicos (p. 161).

Por otro lado, la clorhexidina es uno de los antimicrobianos más utilizados en los tratamientos odontológicos por infecciones bucales, esta molécula presenta una gran actividad antibacteriana sumada a una alta substantividad, la cual tiene la capacidad de unirse a las proteínas tales como la albúmina presente en el suero o saliva, la película de la superficie dentaria, las glicoproteínas salivales y las membranas mucosas. Debido a su naturaleza catiónica, la clorhexidina es capaz de unirse electrostáticamente a las superficies de las bacterias cargadas negativamente, dañando así la superficie externa de la pared celular y dejándola permeable (Castro, Vallejo y Barbosa, 2016, p.2).

Dependiendo de su concentración, esta biguanida puede tener efecto bacteriostático o bactericida, y ha sido utilizada en enjuagues bucales para el tratamiento de la gingivitis y de la enfermedad periodontal. Las sales de clorhexidina pueden emplearse en la profilaxis y el tratamiento de las infecciones de boca como: la estomatitis, la estomatitis ulcerativa y la gingivitis aguda ulcerativa necrotizante, en concentraciones de 0,12% y 0,2%. La forma digluconato es la más soluble en agua, a pH fisiológico se disocia fácilmente y es una sal muy estable, de allí que en los preparados farmacéuticos se use la sal digluconato, en el mercado colombiano encontramos tabletas para chupar con clorhexidina digluconato (Castro *et al.* 2016, p.2).

Figura 40. Estructura molecular de clorhexidina con digluconato

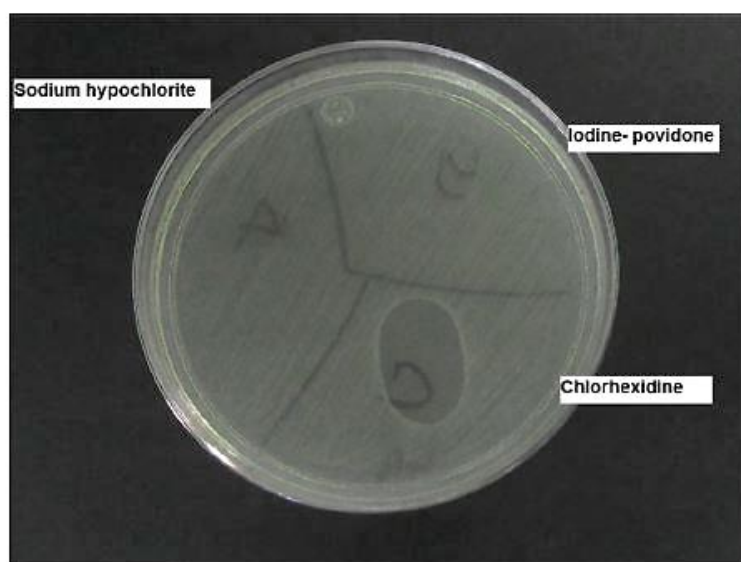


Fuente: Castro, Vallejo y Barbosa, 2016, p. 4.

Según Macías *et al.* (2013), estos autores realizan una comparación de la eficacia antiséptica del hipoclorito de sodio, alcohol isopropílico, povidona yodada y gluconato de clorhexidina. Este fue un estudio que consistió en 2 pasos, incluyó voluntarios sanos. En el paso 1, se analizaron 4 áreas de la piel para detectar bacterias capaces de producir unidades formadoras de colonias (UFC), estos fueron controles para determinar las bacterias basales o el efecto del lavado, y se trataron con hipoclorito al 10% o clorhexidina al 2% en alcohol isopropílico. Cada sujeto fue probado 4 veces.

Una característica destacable de la molécula de clorhexidina, es su efecto substantivo, los autores Macías *et al.* (2013), comprobaron este efecto substantivo con 3 antisépticos diferentes; povidona yodada al 10%, gluconato de clorhexidina 4% e hipoclorito de sodio. El efecto substantivo se refiere a la capacidad que posee el antiséptico para permanecer unido en su forma activa a las superficies biológicas (piel), por lo que la superficie actúa como un reservorio del antiséptico que conduce a una prolongación del efecto bactericida, en la prueba realizada por los autores se logra observar como la clorhexidina inhibió la bacteria, creciendo en cada zona de agar en contacto con la piel tratada; ni el hipoclorito de sodio ni la povidona yodada mostraron tal efecto.

Figura 41. Prueba del efecto substantivo de la molécula original de clorhexidina



Fuente Macías, 2013, p. 3.

En el trabajo realizado por los autores Macías *et al.* (2013), no se encontraron diferencias en el efecto antiséptico inmediato después de 1 minuto de exposición al hipoclorito de sodio y la clorhexidina, de igual manera comentan que los hallazgos pueden sugerir una aplicación más amplia del hipoclorito de sodio; sin embargo, el efecto substantivo resulta ser un factor determinante en procedimientos invasivos, al menos para aquellos con una intervención prolongada o que implican inserción de catéteres. El efecto substantivo es la unión de un antiséptico a las superficies biológicas debido a las fuerzas electroquímicas.

La clorhexidina se une al estrato córneo de la piel, permitiendo que el tejido actúe como un reservorio del antiséptico, perpetuando así la inhibición del crecimiento bacteriano, este hallazgo es importante debido a que la piel es un reservorio de patógenos. La substantividad puede considerarse erróneamente como sinónimo de actividad persistente, que se define a partir de los recuentos bacterianos persistentemente bajos en el cultivo, mientras que la sustantividad significa el efecto real del antiséptico incluso contra organismos recién introducidos. Se concluye con la afirmación que dice que la clorhexidina es la recomendación actual para la preparación de la piel antes de realizar procedimientos invasivos (Macías *et al.*, 2013, p. 3).

Según los autores Donskey & Deshpande (2016) mencionan que el gluconato de clorhexidina es el más utilizado en entornos de atención médica. De manera similar Martínez (2013), menciona que la forma de gluconato es la más utilizada. La clorhexidina tiene una actividad de amplio espectro contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, levaduras y algunos virus con desarrollo lipídico (encapsulados). Los autores Maya *et al.* (2011), se puede inducir una actividad esporicida potente en clorhexidina en condiciones físicas y químicas alteradas (p. Ej., Temperatura elevada, pH alterado y adición de etanol). Sin embargo, la clorhexidina no tiene actividad contra las esporas bacterianas en las condiciones presentes en la piel (p. 2).

La clorhexidina reduce significativamente los niveles de microbiota cutánea residente y transitoria y tiene actividad persistente durante varias horas después de la aplicación. Además, Donskey & Deshpande (2016), presentan una tabla que proporciona una visión general de 14 estudios que han evaluado el efecto del baño de clorhexidina de unidades de cuidados intensivos utilizando diseños cuasiexperimentales, cruzados de alto nivel, estos estudios presentan altos grados de confiabilidad y varios de los estudios también demuestran reducciones en los niveles de patógenos incluidos los bacilos Gram negativos.

Figura 42. Efecto del baño de gluconato de clorhexidina sobre la colonización y la infección con patógenos

Effect of chlorhexidine gluconate (CHG) bathing on colonization and infection with pathogens

Study	Setting	Chlorhexidine formulation	Design	Outcomes
7	Medical intensive care unit	2% chlorhexidine gluconate (CHG)-impregnated cloths	Quasiexperimental	Decreased vancomycin-resistant enterococci on patients' skin, health care workers' hands, and environment Reduced acquisition of vancomycin-resistant enterococci colonization
11	Medical intensive care unit	4% CHG solution	Quasiexperimental	Decreased <i>Acinetobacter baumannii</i> skin colonization and bloodstream infections
10	2 Medical intensive care unit wards	2% CHG-impregnated cloths	2 arm crossover trial	Decreased primary bloodstream infections
6	Medical intensive care unit	2% CHG-impregnated cloths	Quasiexperimental	Decreased central line-associated bloodstream infections and blood culture contamination
12	6 Intensive care units in 4 hospitals	2% CHG-impregnated cloths	Quasiexperimental	Decreased acquisition of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> and vancomycin-resistant enterococci Decreased vancomycin-resistant enterococci bacteremia
17	Long-term acute care hospital	2% CHG solution	Quasiexperimental	Decreased central line-associated bloodstream infection No change in ventilator-associated pneumonia
9	2 Intensive care units	4% CHG solution plus chlorhexidine acetate powder to groin, axilla, and skin folds	Quasiexperimental	Decreased acquisition of methicillin-resistant <i>S aureus</i> (non-qacA/B strains)
14	Trauma intensive care unit	2% CHG-impregnated cloths	Quasiexperimental	Decreased methicillin-resistant <i>S aureus</i> and <i>Acinetobacter</i> spp colonization Decreased central line-associated bloodstream infection
19	Surgical intensive care unit	2% CHG-impregnated cloths	Quasiexperimental	No decrease in central line-associated bloodstream infection
13	Trauma center intensive care unit	2% CHG-impregnated cloths	Quasiexperimental	Decreased central line-associated bloodstream infection
16	4 Medical wards	2% CHG-impregnated cloths	Quasiexperimental	Decreased methicillin-resistant <i>S aureus</i> and vancomycin-resistant enterococci infections No change in <i>Clostridium difficile</i> infections
21	Hospital-wide	4% CHG solution applied as bed bath or shower daily or 3 times per week	Quasiexperimental	Decreased <i>C difficile</i> infections No change in other hospital-associated infections
8	Oncology patients	2% CHG-impregnated cloths	Quasiexperimental	Decreased acquisition of vancomycin-resistant enterococci colonization
15	4 Long-term acute care hospitals	2% CHG-impregnated cloths	Stepped wedge bundle	Decreased <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase-producing enterobacteriaceae colonization and infection, all-cause bacteremia, and blood culture contamination

Fuente: Donskey & Abhisek, 2016, p.2

## **Usos de la clorhexidina como antiséptico en pacientes e instrumentos médicos**

Esta sección busca realizar profundizar acerca del amplio uso que presenta la molécula de clorhexidina en sus diversos ámbitos hospitalarios y realizar una narración acerca de la importancia de una correcta técnica de asepsia junto con el correcto uso de este antiséptico, además de buenas prácticas de almacenamiento del mismo, ya que de nada sirve darle un buen uso, si se almacena de manera incorrecta, esto basado en fuentes bibliográficas de diversos autores.

Según la Organización Mundial de Salud [OMS] (2017), en su Guía para la Prevención y Control de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud: Recomendaciones Básicas, la evidencia científica disponible indica que las intervenciones con mejores resultados son aquellas cuyas practicas solo se admiten si se realizan de forma correcta, es necesario establecer y asegurar el cumplimiento de medidas que permiten modificar las conductas del equipo de salud y en las que se pueda mantener adherencia sostenida en el tiempo y que puedan demostrar eficacia a largo plazo. Las estrategias básicas recomendadas en el documento son: 1) disponibilidad de directrices o descripción de qué debe hacerse; 2) capacitación; 3) evaluación, y 4) generación de cultura y cambios de conducta (p. 8)

Según Larrañaga y Fernández (2012) en la Guía de Prevención de Infecciones Hospitalarias mencionan el control de la infección hospitalaria es un indicador de la calidad de la atención de las instituciones de asistencia médica. Dicho programa elaborados por los autores mencionados, tiene como objetivos: proteger al paciente, proteger al personal de salud, visitas y personas que ingresen al ambiente hospitalario, también busca reducir el índice de las infecciones noso-comiales, el tiempo de internación y los costos que estos llevan. La forma más efectiva de evitar la infección, es impedir su transmisión de paciente a paciente y de paciente a personal de la salud, el aislamiento está dirigido a romper la cadena de transmisión. Todos los pacientes deber sometidos a medidas que minimicen una posible transmisión de patógenos, conocida como precaución estándar (p. 5).

La precaución estándar se aplica para todas las personas que se encuentren en el centro de salud, comprende lavado de manos, colocación de guantes limpios, siempre que se esté en contacto con sangre o cualquier fluido corporal, mucosas, piel no intacta u objetos contaminados. El uso de guantes no exime el lavado de manos antes de ponérselos y al quitárselos. Se debe cambiar los guantes entre paciente y paciente. En la habitación se debe mantener siempre una distancia mayor de un metro entre paciente y paciente. La puerta debe permanecer abierta y la ventilación ser adecuada (Larrañaga y Fernández, 2012, p. 5).

El material debe ser procesado después del uso de acuerdo con las normas vigentes en la Institución de limpieza, desinfección o esterilización, y de acuerdo a su clasificación: crítico, el que penetra en el torrente sanguíneo o invade sitios estériles, semi-crítico, entra en contacto con mucosas (Ej: aparatos de fibroscopía) y no crítico (solo contactan con la piel sana: estetoscopios, aparato de presión). El transporte de la ropa usada, debe hacerse dentro de contenedores resistentes y de acuerdo al nivel de contaminación de la misma. Los instrumentos corto- punzantes serán colocados en contenedores de paredes resistentes a la perforación. Las habitaciones y los objetos próximos a la cama, se limpian con agua y jabón y se desinfectan con agua e hipoclorito (Larrañaga y Fernández, 2012, p. 5).

El objetivo de estas precauciones estándar proporcionadas por los autores Larrañaga y Fernández. (2012), es proteger a paciente, al trabajador y evita la transmisión, de haber casos que necesiten aislamiento se busca:

Tabla 6. Precauciones emitidas por los autores Larrañaga y Fernández

1. Habitación individual	Es lo ideal de no ser posible se realiza aislamiento de cohorte (pacientes con igual enfermedad infecciosa o microorganismo, pueden compartir la habitación).
2. Usar siempre guantes limpios no estériles	Esta práctica se recomienda antes de cualquier contacto con el paciente, o su entorno.
3. Aplicación de alcohol gel	Siempre antes de colocarse y después de retirarse los guantes

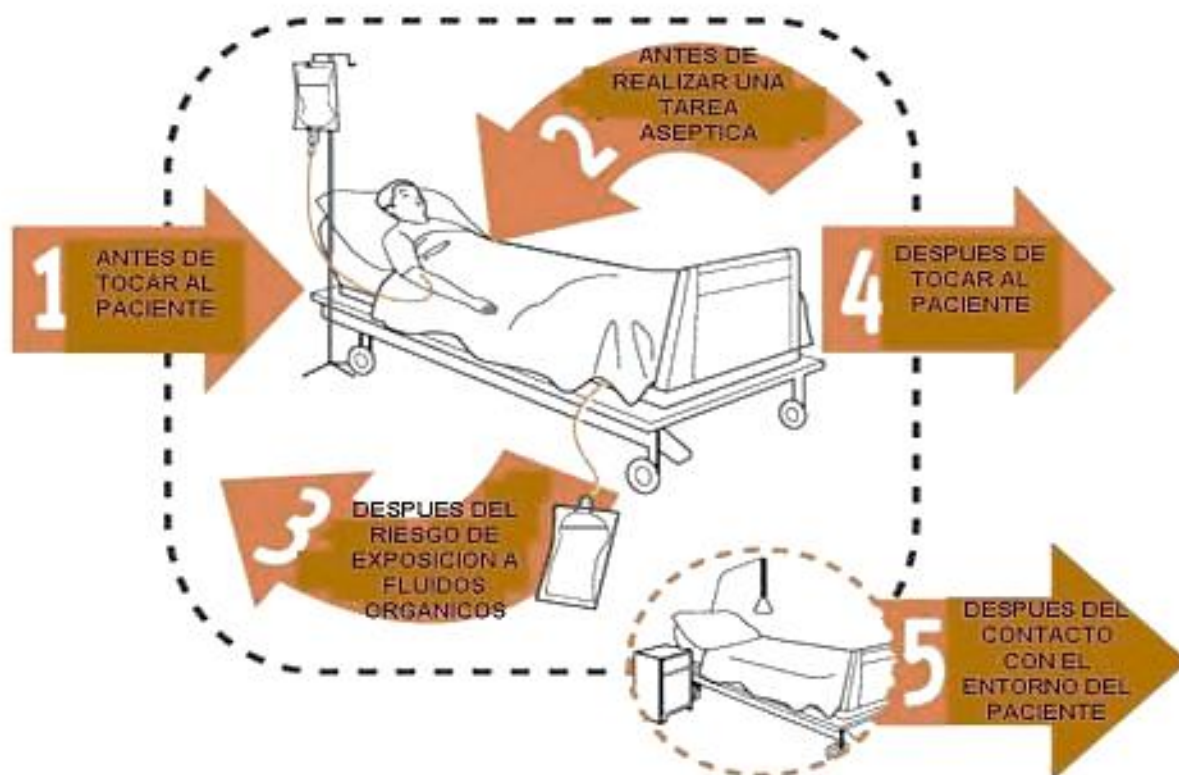
4. Usar equipamiento de protección personal	Equipo como: sobretúnica, tapaboca, lentes), si se valora que en la atención se tendrá contacto con el paciente, fluidos orgánicos o instrumental
Esfigmomanómetro, estetoscopio, termómetro, alcohol gel	Se recomienda que sea exclusivo para cada paciente para evitar la transmisión cruzada
5. Bolsa roja y negras	Las bolsas negras para residuos comunes y la bolsa roja para residuos con riesgo de infección, en cada habitación.
6. Bolsa transparente	Para la recolección de la ropa de cama en la habitación
7. Artículos de limpieza	Exclusivos para la habitación
8. Limitar los traslados del paciente	Dependiendo del grado de aislamiento las medidas aumentan su nivel de severidad (Ej: ante la sospecha de microorganismo que se pueden transmitir por partículas menor a 5 micras que quedan suspendidas en el aire).
9. Toda persona que entre a la habitación, de pacientes infectados con microorganismo menores de 5 micras	Debe usar una mascarilla de alto nivel de protección respiratoria (modelo N95).
10. Flujo de aire de las instalaciones	El aire fluya desde el pasillo hacia el exterior del edificio, lo ideal es de 6 a 12 cambios de aire por hora, para ello hay que mantener las puertas cerradas.

Fuente: Elaboración propia basado, Larrañaga y Fernández,2012, p. 6.

La higiene de manos deber ser un hábito para los trabajadores del área de salud y el controlar de su adhesión es un desafío para los comités de infecciones, es la medida más simple y más efectiva para prevenir dichas infecciones. El termino higiene de manos aplica a: lavado de manos (el cual se lleva a cabo con detergente común (jabón) y agua sin

antiséptico. El lavado de manos antiséptico: Lavado con agua y un detergente (jabón) conteniendo un agente antiséptico. Lavado a quirúrgico de manos: Se refiere al lavado de manos antiséptico o fricción de manos antiséptica, realizado por el personal del equipo quirúrgico para eliminar la flora transitoria y reducir la flora residente. El antiséptico debe tener actividad antimicrobiana persistente o residual. (Larrañaga y Fernández, 2012, p. 23).

Figura 43. Los 5 momentos para el lavado de manos



Fuente: (Larrañaga, Fernández (2012), p.24).

De igual manera la Organización Mundial de Salud [OMS] (2017) en su Guía para la Prevención y Control de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud: Recomendaciones Básicas, menciona generalidades sobre la importancia del lavado de manos debido a la presencia de dos tipos de flora microbianas; la residente la cual se encuentra normalmente colonizada con microorganismos, principalmente bacterias de géneros, tales como *Propionibacterium*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus coagulasa negativa* y *Acinetobacter spp.* Bajo las uñas también pueden encontrarse levaduras, como *Candida parapsilosis*. La flora residente está conformada por microorganismos que viven

regularmente en los niveles superficiales del estrato córneo de la piel y no puede ser totalmente eliminada. Pueden ocasionar infecciones al entrar en contacto con cavidades normalmente estériles, mucosas y conjuntiva o soluciones de continuidad de la piel/discontinuidad de la piel del huésped. (p. 30)

De manera similar la Organización Mundial de Salud [OMS] (2017) en su Guía para la Prevención y Control de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud: Recomendaciones Básicas, mencionan la microbiota transitoria los cuales son microorganismos que no suelen residir sobre la piel. Se adquieren mediante contacto con superficies animadas o inanimadas contaminadas con microorganismos, no se mantienen permanentemente y son susceptibles de remoción mediante la higiene de manos. Pueden ser de distinto tipo, como bacterias de la especie *Staphylococcus aureus*, bacilos Gram negativos, hongos, virus. Además, mencionan la principal fuente de contaminación de las manos del personal de salud son los pacientes infectados y, en ocasiones, también los pacientes colonizados con microorganismos patógenos (como es el caso de los recién nacidos en las unidades de cuidados intensivos neonatales) (p. 31)

De manera similar la Organización Mundial de Salud [OMS] (2017) en su Guía para la Prevención y Control de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud: Recomendaciones Básicas. Al reducir el número de microorganismos presentes en las manos (principalmente flora transitoria), la higiene de ellas es una de las estrategias más eficaces para prevenir la transmisión cruzada de microorganismos que causan IAAS. No obstante, la práctica no siempre es suficiente por sí misma para prevenir las IAAS, aunque sí es el componente más importante de las precauciones estándares. Entre las precauciones estándares se han descrito dos tipos de métodos de higiene de las manos: 1) lavado con agua y detergente o jabón, con o sin antiséptico (clorhexidina, povidona yodada) y 2) frotación de las manos con soluciones de alcohol. Cualquiera de los dos tiene por objeto eliminar la suciedad, la materia orgánica y la flora o microbiota transitoria (pp. 31-38).

Figura 44. Infograma de la OMS acerca de cómo lavarse las manos

# ¿Cómo lavarse las manos?

¡Lávese las manos solo cuando estén visiblemente sucias! Si no, utilice la solución alcohólica

**1** Duración de todo el procedimiento: 40-60 segundos



**0** Mójese las manos con agua;



**1** Deposite en la palma de la mano una cantidad de jabón suficiente para cubrir todas las superficies de las manos;



**2** Frótese las palmas de las manos entre sí;



**3** Frótese la palma de la mano derecha contra el dorso de la mano izquierda entrelazando los dedos y viceversa;



**4** Frótese las palmas de las manos entre sí, con los dedos entrelazados;



**5** Frótese el dorso de los dedos de una mano con la palma de la mano opuesta, agarrándose los dedos;



**6** Frótese con un movimiento de rotación el pulgar izquierdo, atrapándolo con la palma de la mano derecha y viceversa;



**7** Frótese la punta de los dedos de la mano derecha contra la palma de la mano izquierda, haciendo un movimiento de rotación y viceversa;



**8** Enjuáguese las manos con agua;



**9** Séquese con una toalla desechable;



**10** Sirvase de la toalla para cerrar el grifo;



**11** Sus manos son seguras.

 <p><b>Organización Mundial de la Salud</b></p>	<p><b>Seguridad del Paciente</b>  <small>EM ALBERTA BIEN AL PARA LOS ATENCION MAS SEGURA</small></p>	<p><b>SAVE LIVES</b>          Clean Your Hands</p>
--	--	--

La Organización Mundial de la Salud y sus socios trabajan para promover y mejorar la salud pública mundial. El uso de la etiqueta "Seguridad del Paciente" es un compromiso de la OMS para promover la seguridad del paciente. El uso de la etiqueta "Save Lives" es un compromiso de la OMS para promover la seguridad del paciente. El uso de la etiqueta "Clean Your Hands" es un compromiso de la OMS para promover la seguridad del paciente.

Organización Mundial de la Salud, Octubre 2010

Fuente: OMS, (2017), p.40

Según Nuñez (2015), menciona el correcto lavado de quirúrgico y además señala la marca comercial (Avagard) la cual es gluconato de clorhexidina al 1% y alcohol etílico al 61% el mismo viene en una presentación de 500ml y 1.2 L cuya indicación es ser antiséptica para manos con humectantes para el personal quirúrgico y cuidados de la salud.

Tabla 7. Lavado de manos quirúrgico

Lavarse las manos y antebrazos con antiséptico (clorhexidina o povidona yodada, de 3 a 5 ml) durante 2 minutos, insistiendo en espacios interdigitales.
Aclarado con agua
Cepillarse las uñas con cepillo estéril durante 30 segundos cada mano con la zona de púas del cepillo
Enjabonarse de nuevo las manos y antebrazos durante 2 minutos con la parte de esponja del cepillo
Aclarado desde las puntas de los dedos hasta llegar a la altura del codo
Secado, sin frotar, con toalla de papel o paño estéril

Fuente: Elaboración propia basado en Nuñez, 2015.

Según los autores Dicks *et al.* (2016) en su artículo “A Multicenter Pragmatic Interrupted Time Series Analysis of Chlorhexidine Gluconate Bathing in Community Hospital Intensive Care Units” el estudio incluyó 33 hospitales comunitarios que participaron desde enero de 2008 hasta diciembre de 2013, 17 hospitales implementaron baños con gluconato de clorhexidina y 16 hospitales sirvieron como controles, determinaron si el baño diario de gluconato de clorhexidina de pacientes en la unidad de cuidados intensivos,. Los resultados demostraron una tendencia descendente de las infecciones adquiridas en los hospitales que implementaron baños con gluconato de clorhexidina (pp. 1-7).

Los autores Reese *et al.* (2017), en su artículo: Hospital-wide chlorhexidine gluconate bed bathing protocol: A cross-sectional study in a single hospital. Tiene como objetivo determinar la comprensión de las prácticas de baño en cama a lo largo de un periodo de tiempo, la cual fue por medio de encuestas realizadas antes de la intervención 6 y 18

meses después de la intervención. El baño de cama es una actividad de enfermería que mejora la higiene del paciente, ayuda a la relajación y estimula la circulación además permite evaluar la movilidad del paciente, la integridad de la piel. El uso el jabón de gluconato de clorhexidina como antiséptico tópico ya que reduce la colonización de la piel hasta por 24 horas (p. 1)

Los autores Reese et al. (2017), demostraron la implementación exitosa y la sostenibilidad de un protocolo estandarizado de baño de cama, en este estudio, se realizó un seguimiento de la adherencia a los 6 y 18 meses después de la intervención a través de encuestas de personal. Aunque el cumplimiento del nuevo protocolo no se realizó un seguimiento individual, las respuestas de la encuesta revelaron que los encuestados en su conjunto estaban realizando más del protocolo en comparación con la línea de base, Además, las respuestas de la encuesta fueron del personal de enfermería de cuidados intensivos y cuidados críticos, lo que demuestra que el protocolo puede ser utilizado por una variedad de personal para diferentes niveles de agudeza de pacientes (pp. 2-3).

### **Prevención de las infecciones relacionadas a dispositivos intravasculares**

La utilización de catéteres intravasculares con fines diagnósticos o terapéuticos es cada vez más frecuente, los catéteres venosos centrales (CVC) son el origen del 90% de las bacteriemias hospitalarias. Los microorganismos responsables son aquellos cuyo hábitat natural es la piel. La colonización desde la superficie cutánea del paciente o por colonización exógena de la piel a través de las manos del personal de la salud, permite que los mismos migren por la superficie externa y alcancen la punta del catéter y la superficie intravascular a través de la fibrina que se constituye tras la inserción del mismo. Conocida como vía extraluminal, es el mecanismo responsable en el 70-90% de los casos, en especial en los primeros diez días de insertado el catéter (Larrañaga y Fernández, 2012, p. 25).

La colonización endoluminal ocurre cuando las bacterias acceden por el interior del catéter desde las conexiones de este, favorecido por la manipulación del personal, está involucrada en el 10-50% de los casos de infecciones asociadas a dispositivos intravasculares. Es el mecanismo principal en catéteres utilizados para la alimentación parenteral, sobre todo cuando se utilizan infusiones con lípidos y en especial en aquellos cuya utilización excede los diez días, lo cual supone una mayor manipulación de llaves y

rampas. Los catéteres de polivinilo y de polietileno son más trombo-génicos y favorecen más la adherencia de los microorganismos que los de teflón, poliuretano o silicona (Larrañaga y Fernández, 2012, p. 25).

Algunas de las recomendaciones dadas por Larrañaga, Fernández (2012), son:

“Inspeccionar visualmente el sitio y palpar el sitio de la inserción para ver si hay signos de flebitis como lo son inflamación y dolor o signos de infección, la vena subclavia es el lugar de preferencia, la vena yugular y femoral son alternativas válidas, pero con mayor riesgo de infección. La fijación del catéter debe ser suficientemente firme para evitar la salida accidental del catéter y su movilización en el sitio de inserción. Hay que evitar que los puntos de fijación impidan la inspección visual del punto de inserción. Una vez colocado el catéter se cubrirá con gasas estériles, se deben de evitar las curaciones voluminosas que dificulten la palpación de igual manera no está indicado el uso de polvos o pomadas con antibióticos en la curación “(p. 25).

Figura 45. Paquete de medidas para la prevención de bacteriemias asociadas a CVC

MEDIDAS PARA LA INSERCIÓN	MEDIDAS DE MANTENIMIENTO
Higiene de manos	Higiene de manos
Uso de medidas de máxima barrera	Manipulación higiénica del catéter
Limpieza y desinfección de la piel con clorhexidina jabonosa y alcohólica	Desinfección de la piel con clorhexidina alcohólica al 2% al curar cada 48 hs. y retirar el catéter
Evitar acceso femoral	Retirar vías innecesarias

Fuente: Larrañaga y Fernández, 2012, p. 25.

Según los autores Diomedi *et al.* (2017) mencionan en prevención de la infección asociada a CVC. En un estudio clínico prospectivo, aleatorizado, se comparó clorhexidina 2%, yodo povidona 10% y alcohol 70% en la prevención de infecciones asociada a catéter venoso central o arterial. Clorhexidina fue asociada con la incidencia de infección más baja 2,3 por 100 catéteres versus 7,1 en el grupo de alcohol y 9,3 en el grupo yodo povidona.

Los autores concluyen que clorhexidina 2% es mejor que yodo povidona 10% o alcohol 70% para la antisepsia cutánea antes de la inserción de un dispositivo vascular y, su posterior aplicación para el cuidado del sitio post inserción reduce sustancialmente la incidencia de infecciones relacionadas a este dispositivo (p. 163).

Preparación de la medicación de uso intravenoso conlleva primeramente a un lavado de mano seguido de una inspección visual del medicamento (turbidez, partículas extrañas, fecha vencimiento), realizar la desinfección de los tapones de los medicamentos y/o sachets de sueros con torundas embebidas con alcohol al 70%. Los sachets de sueros se cortarán con tijera previamente desinfectada con alcohol al 70%, cada vez que se realice el corte. Preparar la medicación según la indicación y corroborar lo indicado al paciente con los datos que están en la receta de medicación (Larrañaga y Fernández, 2012, p. 32).

La administración intravenosa del medicamento se da con la corroboración de la medicación preparada corresponda al paciente, verificando nombre y número de cama. Colocar el medicamento en un lugar limpio y proceder a retirar el tapón del cierre de la vía y colocar la jeringa si es una vía venosa periférica corroborar que la vía esté permeable: aspirando y observando que venga sangre. Inyectar el medicamento a infundir en forma lenta controlando la aparición de complicaciones, como: infiltración, ardor, dolor, enrojecimiento en la zona, cerrar la llave y colocar el tapón. Colocar el material usado en la bandeja y retirarla de la habitación proceder con lavado de manos y registrar en la historia clínica de la medicación administrada (Larrañaga y Fernández, 2012, p. 32).

En la prevención de las infecciones relacionadas con los líquidos de infusión se controlar los recipientes de fluidos parenterales observando si hay turbidez, roturas o presencia de partículas extrañas y controlar la fecha de vencimiento. En lo posible usar aditivos y/o medicación de dosis única. Si se utilizan multidosis y están contenidas en ampollas éstas deben desecharse. Si las multidosis están envasadas en frasco ampolla, se deberá de limpiar el tapón de goma con alcohol al 70% cada vez que se vaya a utilizar. Utilizar elementos estériles cada vez que se accede a un frasco de multidosis, evitando la contaminación antes de puncionar el tapón de goma. Descartar los frascos de multidosis ante la sospecha de contaminación o cuando alcanzó la fecha de vencimiento. Completar la

infusión de las soluciones de lípidos en un período no mayor a 12 horas. Completar la infusión de sangre o derivados en 4 horas (Larrañaga y Fernández, 2012, p. 33).

Los catéteres para hemodiálisis, constituyen al igual que otros dispositivos invasivos un factor de riesgo para la infección hospitalaria. Entre las recomendaciones de actuación destacan las siguientes normas: De ser posible el paciente debe realizarse un baño preoperatorio en ducha, lavado de cabello con jabón líquido antiséptico. Si el paciente se encuentra en cama, imposibilitando el baño de ducha, se debe realizar baño en cama con igual producto. La curación de sitio se debe realizarse con gluconato de clorhexidina alcohólica al 0.5% y la curación debe ocluir totalmente el catéter. El profesional en salud usara precauciones de barrera como (gorro, tapaboca, guantes estériles) (Larrañaga y Fernández, 2012, p. 37).

La neumonía asociada a ventilación es la que se desarrolla en pacientes durante la asistencia respiratoria mecánica, luego de 48 horas de intubación. Las medidas generales conllevan a lavar los equipos antes de ser esterilizados o desinfectados, Para reutilizar material semi-crítico, se deberá esterilizar o aplicar desinfección de alto nivel, el material semi-crítico: es aquel que entra en contacto directo o indirecto con la mucosa del tracto respiratorio. Comprende: máscara, tubo oro-traqueal, ambú, humidificadores, circuitos del respirador, broncoscopio, palas de laringoscopia, pieza bucal de aparatos de medidas respiratorias, nebulizadores, catéter nasal, tubo de mayo, sonda de aspiración (Larrañaga, Fernández (2012), p. 38).

Los autores Diomedí *et al.* (2017) realizaron un estudio que evaluó la efectividad de la solución de clorhexidina en la prevención de NAVM y la colonización oro-faríngea mediante descontaminación oral con 15 ml de clorhexidina 2% versus un aseo con solución salina (NaCl 9 %). Un total de 102 pacientes fueron incluidos en el grupo con clorhexidina y 105 en el grupo de solución salina, demostrándose una reducción en la tasa de NAVM de 21 a 7 por 1.000 días de ventilación mecánica ( $p = 0,04$ ). Como eventos adversos se evaluó la irritación de la mucosa oral siendo de 9,8% para el grupo de clorhexidina y 0,9% para el grupo con solución salina. El Consenso Chileno de NAVM, recomienda la implementación del aseo de la cavidad oral con clorhexidina, por ser eficaz en la disminución en la incidencia de NAVM; y aparentemente ser costo-efectiva (p. 163).

Por otra parte, otro estudio publicado por el autor Klompas (2017), menciona que la neumonía asociada al ventilador sigue siendo una complicación común y mórbida de la ventilación mecánica. Los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de EE. UU. Estiman que el VAP (neumonía asociada a ventilación mecánica), actualmente afecta al 6.6% de los pacientes con ventilación mecánica, lo que corresponde a 50,000 casos por año solo en los Estados Unidos. Los componentes de los paquetes de ventiladores de diferentes hospitales varían ampliamente, pero el 80% incluyen un enjuague antiséptico de gluconato de clorhexidina.

Durante años, muchos trabajos han recomendado el cuidado oral de rutina con clorhexidina en pacientes con VM (ventilación mecánica), pero se muestra resúmenes de los ensayos controlados aleatorios que se han evaluado el impacto de la clorhexidina y el posible riesgo de aumento de la mortalidad, esto debido a que una fracción de los pacientes puede aspirar algo de clorhexidina en el parénquima pulmonar que desencadena el síndrome de dificultad respiratoria aguda. Los datos que respaldan esta hipótesis incluyen un informe de caso sobre un paciente que desarrolló SDRA fatal después de la inhalación de clorhexidina y observaciones de pacientes que aspiraban durante el cuidado bucal (Klompas, 2017, p. 3).

El autor Klompas (2017), menciona los estudios en ratas han confirmado que la instilación traqueal de una dosis única de clorhexidina puede desencadenar una lesión pulmonar aguda. incluyendo hemorragia perivascular e intraalveolar, congestión pulmonar y fibrosis, el riesgo de la lesión va a depender de la concentración, la dosis utilizada de clorhexidina en el estudio fue de 300  $\mu\text{L}/\text{kg}$  es decir 18ml de solución en una persona de 60kg. Otro de los efectos adversos mencionados es la propensión de la clorhexidina a manchar los dientes se conoce desde hace mucho tiempo, pero mismo autor señala otro efecto adverso oral, el cual es la lesión erosiva de la mucosa oral en un 10% de los pacientes asignados al uso diario con digluconato de clorhexidina 2% (p. 5).

De igual manera las directrices publicadas por la Sociedad para la Epidemiología de la Atención Médica de EE. UU sobre las estrategias para prevenir a VAP es reducir la atención oral con clorhexidina de una práctica rutinariamente recomendada para todos los hospitales a una práctica especial reservada para hospitales que tienen tasas de VAP

persistentemente altas. De manera similar, la Sociedad de Cuidados Intensivos del Reino Unido ahora recomienda no usar clorhexidina oral para pacientes de cirugía no cardíaca. (Klompas, 2017, p. 5).

La infección urinaria es la infección hospitalaria más frecuente, representa el 40% de estas. El 80% está asociado con sonda vesical y el 5 a 10% del restante, se asocia a otras maniobras invasivas sobre la vía urinaria. Al 25% de los hospitalizados se les coloca un catéter en la vía urinaria. Prolongan entre 2 a 4 días el tiempo de internación y aumentan más de 500 dólares los costos de internación por cada episodio. Las principales consecuencias de la infección urinaria asintomática son: La posible progresión hacia pielonefritis, bacteriemia y sepsis, Selección de cepas resistentes favorecido por la presión antibiótica, Que constituya un reservorio de bacterias hospitalarias, posibilitando una fuente de infección cruzada. (Larrañaga y Fernández, 2012, p. 41).

El ascenso de los patógenos responsables de la infección ocurre sobre todo por dos vías: Intraluminal a contracorriente, favorecida por la contaminación de la bolsa colectora, en estos casos se infectan durante las 48 horas que siguen al cateterismo y se atribuye a defectos en la técnica de colocación del catéter. Extraluminal, se presentan más alejados con relación al momento de la colocación. Este último mecanismo, es debido a la formación de una película biológica formada por sustancia orgánica e inorgánica procedente de restos celulares, bacterianos y bacterias, que crece entre el catéter y la pared de la uretra (Biofilm) (Larrañaga y Fernández, 2012, p. 42).

Los microorganismos proceden de la flora propia perineal del paciente, como *Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Enterococcus spp* y *Acinetobacter*, producto de la colonización previa por infección cruzada, transmitida por las manos del personal asistencial. Las siguientes recomendaciones se desarrollan para pacientes que requieren cateterismo vesical transitorio, considerado aquel cuya duración no es mayor de 21 días y excluye los pacientes con requerimiento de cateterismo prolongado o a permanencia. Colocación por personal entrenado y realizar entrenamiento periódico en la técnica de colocación y manipulación. (Larrañaga y Fernández, 2012, p. 42).

Los autores Larrañaga y Fernández (2012) menciona que está demostrado que los catéteres permanecen más tiempo del necesario. Realice higiene de manos inmediatamente

antes y después de insertar y/o manipular la sonda vesical, insertar la SV usando técnica aséptica y equipamiento estéril (inclusive el lubricante). Usar para la inserción, guantes estériles, solución estéril para la limpieza peri-uretral y un lubricante unidosis estéril. Mantener un flujo de orina sin obstrucción. Mantener el catéter y el tubo de conexión libre de acodaduras. Mantener la bolsa de colectora por debajo del nivel de la vejiga todo el tiempo. No apoyar la bolsa en el piso (p. 42).

Las infecciones del sitio quirúrgico (ISQ), son junto con las neumonías, sepsis e infecciones urinarias, los cuatro tipos de infecciones hospitalarias más frecuentes. Las ISQ representan aproximadamente el 25% del total de las IH. Las recomendaciones pre-operatorias son: La estadía pre operatoria debe ser tan breve como sea posible y se debe evitar la hiperglicemia peri- operatoria. Recomendar baño higiénico la noche anterior a la cirugía de preferencia en ducha, limpiar y lavar ampliamente el sitio quirúrgico para remover la contaminación de la piel antes de la antisepsia pre –operatoria. Para toda cirugía la higiene corporal se realizará con clorhexidina detergente al 4 (Larrañaga y Fernández, 2012, p. 42).

No se utiliza clorhexidina detergente en cirugías, cráneo facial, oftalmológica y cirugía de oídos, por la toxicidad de la clorhexidina sobre estos tejidos, debe usarse jabón neutro o yodóforos en base detergente. El lavado de manos pre operatorio se realizará por un mínimo de 2 a 5 minutos con jabón con gluconato de clorhexidina al 4 %, desde las manos y antebrazos hasta los codos. Mantener las manos elevadas después del cepillado, con los codos flexionados de forma que el agua escurra a partir de los dedos en dirección a los codos. Secar con toalla estéril y colocar guantes estériles. (Larrañaga y Fernández, 2012, p. 42).

Según los autores Diomedi *et al* (2017) mencionan que la prevención de infección de herida operatoria. En diferentes estudios de uso de gluconato de clorhexidina (CHG) en cirugía se destaca que la incidencia de ISQ después de cirugías abdominales limpia-contaminadas fue menor en el grupo que uso CHG en la preparación de la piel 10,8 versus 17,9% en el grupo que uso povidona yodada (PI). En cirugías de cesáreas se observó beneficio al utilizar gluconato de clorhexidina en base alcohólica versus povidona en base alcohólica; la tasa de infección fue de 4% en el grupo de CHG-OH versus 7,2% en el grupo

de I-OH con un RR 0,55 (IC 0,34-0,9)  $p = 0,0236$ . En cirugías limpias, en población adulta se observó que, al comparar el uso de gluconato de clorhexidina en base alcohólica versus povidona yodada en preparación de piel, la tasa de infección fue de 9,5% versus 16,1 (p. 162)

Según las autoras Rivera, Martel y Azucena (2017) mencionan como tiene que ser la preparación, pero-operatoria del paciente:

Tabla 8. Preparación, pero-operatoria del paciente

1.- La zona operatoria y el área circundante deben ser preparadas con soluciones antisépticas, como son Povidona Iodado al 10%, Gluconato de Clorhexidina al 4%, alcohol etílico de 70 grados, este último en caso de alergia demostrada a los antisépticos anteriores. Nunca deben emplearse soluciones desinfectantes.
2.- El antiséptico que se usará en la pincelación de la piel debe estar de acuerdo con el jabón que se usó para el lavado de la zona operatoria, para evitar incompatibilidades con compuestos amónicos como jabones y detergentes corrientes. Los antisépticos no deben mezclarse.
3.- Para evitar quemaduras químicas no se debe permitir que los antisépticos se acumulen bajo el paciente
4.- Se debe esperar el tiempo suficiente para que los antisépticos se sequen antes de poner los campos estériles, ya que forma una película de antiséptico que permite aumentar su eficacia y la duración de su acción.
5.- La preparación de zonas quirúrgicas, como mucosas, piel quemada, piel traumatizada, se debe realizar con solución salina a una temperatura de 30 a 35 grados centígrados.

Fuente: Elaboración propia basado en Rivera, Martel y Azucena, 2017.

Partiendo de la premisa, de que la administración tópica será más efectiva, si permanece el principio activo en contacto con las áreas de la mucosa lesionada durante más tiempo, nos encontramos con que en la cavidad oral este aspecto es especialmente complejo

por la intervención de factores como la secreción salival o los movimientos buco linguales. Por ello, solo se pueda aumentar el tiempo de permanencia del fármaco en la boca de dos maneras: incrementando voluntariamente la retención del mismo por parte del paciente o incorporando a las formulaciones galénicas sustancias que favorezcan la adhesión a la mucosa. Además, debido a la continua dilución salival del principio activo y la deglución involuntaria por parte del paciente, existe un alto riesgo de que se pierda la mayor parte del medicamento (Castro *et al.*, 2016, p. 2).

Por esta razón, la investigación de los autores Castro, Vallejo & Barbosa (2016), busca el desarrollo de un sistema polimérico a base de pululano cargado con clorhexidina, ya que su capacidad mucoadhesiva permite fijar el fármaco a la dentina, o superficie del diente, gracias a un mayor tiempo de contacto sobre la mucosa oral. Los sistemas orales con propiedades mucoadhesiva representan matrices adecuadas para incorporar una gran variedad de fármacos, actualmente, estos sistemas son preferidos para el desarrollo de medicamentos de aplicación oral por sus ventajas, como los prolongados tiempos de residencia y la estabilidad del fármaco, los autores concluyen la investigación con la demostración de la utilidad de pululano (polímero biodegradable) como un soporte polimérico versátil.

Las películas de pululano, sin estar en combinación con otros polímeros, tienen excelentes propiedades mecánicas y de transporte, lo cual permite que estas se fijen a cualquier superficie de la mucosa bucal y, además, facilitan el paso de los fluidos biológicos a través de sus cadenas poliméricas cediendo el fármaco de elección. Los estudios de liberación demostraron que ambos sistemas poliméricos entregan el principio activo en su totalidad, permitiendo prever su posible eficacia frente a las infecciones de la boca. Los sistemas poliméricos cargados con el principio activo clorhexidina digluconato, objeto de estudio en el presente trabajo, demuestran efectividad, inhibiendo el desarrollo de microorganismos como bacterias y levaduras (Castro *et al.* 2016, p. 2).

### **Almacenamiento de antisépticos**

Según los autores Moreno, Schade, Rivero, Smith (2015) en el artículo de revista, Recomendaciones prácticas para la antiseptia y desinfección menciona como almacenar los antisépticos:

Tabla 9. Almacenamiento de los antisépticos

Los frascos de antisépticos y desinfectantes deben ser almacenados en un lugar destinado exclusivamente para ello, protegido del polvo, la contaminación y a temperatura ambiente.
Una vez abiertos los frascos, no podrán volver a guardarse en el mismo sitio.
Durante el tiempo de almacenamiento, deben permanecer sellados.
Debe evitarse mantener stock en los Servicios Clínicos. Si se hace, debe ser pequeño.
Siempre deberán almacenarse los frascos de acuerdo a su fecha de vencimiento y su salida será dando prioridad a aquellos con mayor tiempo de almacenamiento.
Además, mismos autores sugieren recomendaciones generales sobre el uso de los antisépticos
En los frascos de antisépticos deberá colocarse la fecha de apertura en la etiqueta.
En caso de que se encuentre abierto, verificar vigencia del producto.
No debe almacenarse excedentes o remanentes de antisépticos para días posteriores.
Los antisépticos que encontrándose abiertos no tengan fecha de apertura en envase, se considerarán vencidos. Los antisépticos no se deben trasvasar, ni rellenar en ninguna área del Hospital.
No se deben aplicar sobre la piel dos o más agentes químicos simultáneamente, ya que se altera su acción
Los antisépticos siempre se aplican en superficies sobre las cuales se ha hecho previamente una limpieza por arrastre ya que se inactivan en presencia de materia orgánica.
Las tómulas que se usan para antisepsia de la piel, en la administración de medicamentos, deben impregnarse con la solución antiséptica al momento de realizar el procedimiento para evitar la contaminación y evaporación del producto. No se deben preparar tómulas con antiséptico en forma previa.
Cuando se utilice el antiséptico en grandes superficies cutáneas, hay que considerar el grado de absorción y la posible toxicidad sistémica.

Tapar los antisépticos y desinfectantes con su tapa original. Nunca se deben tapar utilizando cubiertas de metal, algodón, gasa, corcho o pape
--

Los desinfectantes deben diluirse de acuerdo a las recomendaciones del fabricante, estas deben ir con rótulo que contenga los siguientes datos: Nombre del funcionario que diluye, porcentaje de dilución y fecha.
--

No deben mezclarse en un mismo recipiente desinfectantes de distinta composición.
---

Fuente: Elaboración propia basado en Moreno, Schade, Rivero, Smith, 2015, pp. 67-69.

### **Elaboración de los análogos de clorhexidina**

En este apartado se describe el proceso que se llevó a cabo para la elaboración de los 51 análogos de la molécula de clorhexidina (Anexo 1), se partió de un análisis fisicoquímico de la molécula original de clorhexidina, para analizar que tanto cumplía la misma los parámetros fisicoquímicos establecidos por los filtros de druglikeness de Lipinski, Ghose, Muegge y Veber, (Tabla 10). De igual manera se sabe que estos filtros tienen como objetivo garantizar una buena biodisponibilidad oral de los fármacos, al igual de la permeabilidad de los fármacos a través de las membranas biológicas y sabiendo que la molécula de clorhexidina tiene su acción antimicrobiana en el exterior del cuerpo (piel).

Se observó por medio de los análisis *in silico* elaborados que entre más cumplan los análogos de la molécula de clorhexidina los parámetros fisicoquímico más afinidad tendrán los análogos hacia sus dianas moleculares, en este caso los componentes de membrana bacteriana (fosfatoetanolamina (PE), fosfatoglicerol (PG) y cardiolipina (CA), (Anexo 1). Los mejores 3 análogos de clorhexidina son el # 6, # 36 y # 41 para los que se determinaron propiedades fisicoquímicas y propiedades de druglikeness (Tablas 11-13). La elección de los mejores análogos producidos se basó en sus resultados de las energías de unión que tuvieron con los componentes de membrana bacteriana mencionados, (Tabla 15).

Tabla 10. Propiedades físico-químicas y cumplimiento de los filtros de druglikeness de la molécula original de clorhexidina

<b>Clorhexidina</b>			
<b>Fórmula empírica</b>	<b>C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>10</sub></b>	<b>Refractividad molar (MR)</b>	<b>143.43</b>
<b>Masa molecular</b>	<b>505.45g/mol</b>	<b>Área de superficie polar topológica (TPSA)</b>	<b>167.58 Å<sup>2</sup></b>
<b>Número de enlaces rotables</b>	<b>17</b>	<b>Log Po/w consenso</b>	<b>2.79</b>
<b>Número de aceptores de H</b>	<b>4</b>	<b>Log S (delaney)</b>	<b>-2.16</b>
<b>Número de donadores de H</b>	<b>10</b>	<b>Log Kp (permeación de la piel)</b>	<b>-9.33 cm/s</b>
<b>Lipinski</b> 2 violaciones	<b>MM&gt;500</b> <b>Donadores H&gt;5</b>	<b>Muegge</b> 3 violaciones	<b>TPSA&gt;150</b> <b>Enlaces rotables &gt;15</b> <b>Donadores H &gt;5</b>
<b>Ghose</b> 2 violaciones	<b>MM 160-480</b> <b>MR &gt;130</b>	<b>Veber</b> 2 violaciones	<b>TPSA &gt; 140</b> <b>Enlaces rotables &gt; 10</b>

Se puede apreciar que la molécula original de clorhexidina (Tabla # 10). Presenta diversas violaciones a los parámetros fisicoquímicos establecidos por los filtros de druglikeness. Se analizó a profundidad cada uno de los filtros, abordando el filtro de Lipinski, primeramente, también conocido como la regla de los 5, ya que todos son valores múltiplos de 5. Empezando con la masa molecular debe ser menor 500 Da, la molécula original de clorhexidina presenta un peso molecular mayor al establecido por el filtro de Lipinski el cual es de 505.45g/mol, seguido de un log P menor a 5, lo establecido por el filtro de Lipinski, la molécula si cumple este parámetro ya que posee un log P de 2.79 indicando el grado de solubilidad que posee la molécula en medios lipofílicos.

Continuando con los valores de los átomos capaces de aceptar y donar H, el filtro de Lipinski establece que la molécula debe tener menos de 10 aceptores de H y menos de 5 donadores de H, la molécula original de clorhexidina cumple con el número de aceptores de H, ya que posee 4 átomos capaces de aceptar hidrogeno los cuales son los grupos imina presentes en la misma. Para el número de donadores de H, la molécula original de clorhexidina posee 10 capaces de donar hidrógenos entre estos grupos destaca la larga cadena hidrocarbonada que presenta la molécula original de clorhexidina, el filtro de Lipinski establece que solo aceptan moléculas con menos de 5 átomos capaces de donar H, por ende, esta es una violación que presenta a molécula junto con el peso molecular, para los otros 2 parámetros de Lipinski si los cumple.

La lipofilicidad de la molécula esta expresada en una relación entre la solubilidad en octanol y la solubilidad en agua representada (LogP). (Lipinski et al. 2001). Este valor es de suma relevancia tomando en cuenta que la molécula es capaz de unirse a la región hidrofóbica del componente lipídico de la membrana celular, es decir las cadenas hidrocarbonadas de PE, PG y CA, y la parte hidrolítica de los componentes de membrana (grupo fosfato) van tener afinidad a la parte lipofóbica de la molécula, dichas afinidades dan a aluciar que el mecanismo de acción de la molécula consiste en penetrar la membrana celular e ir formando separaciones en la membrana que van ir contribuyendo a las fugas de los componentes intracelulares de la bacteria llegando a ocasionar a lisis de la misma.

A este mecanismo de acción se le suma la teoría de las atracciones de las cargas negativas de la membrana celular con las cargas positivas de la molécula, la que bien está respaldada por la literatura y se sabe que esta molécula de clorhexidina está cargada positiva. Al igual los grupos donadores de H (10), fue mayor a lo establecido (5). Según Lipinski *et al.* (2001). Un excesivo número de donadores y aceptores de hidrógeno, afectan la permeabilidad de la molécula a través de las membranas biológicas, por lo que se ha observado que, a menor cantidad de donadores y aceptores, hay mayor permeabilidad.

A continuación, se presenta el análisis druglikeness del filtro proporcionado por Ghose, el cual cabe destacar que es el más estricto de los filtros, debido a su especificidad de parámetros ya que este se encarga del estudio de Log P cuyo rango es de -0.4 a 5.6 con un rango de preferencia de 1.3 a 4.1. Para este parámetro la molécula si lo cumple y entre el rango de preferencia establecido por el filtro de Ghose ya que la molécula posee un log P de 2.79 como se mencionó con anterioridad este filtro nos establece la lipofiliidad de la molécula. Ghose establece un peso molecular de 160-480 Da con un rango de preferencia de 230-390 Da, la molécula incumple este parámetro debido a que su peso molecular es de 505.45g/mol y finalmente el filtro de Ghose nos establece que la molécula debe poseer una refractividad molar de 40-130 con un rango de preferencia de 70-110, la molécula de clorhexidina posee una refractividad molar de 143.43 es decir mucho mayor a lo establecido por el parámetro del filtro de Ghose, (Tabla # 10).

La refractividad molar va influir directamente en la unión con la diana debido a fuerzas de atracción, las interacciones electrostáticas resultan de la fuerza de atracción entre cargas positivas y negativas de dos moléculas. La fuerza de atracción entre estas cargas opuestas conduce a tres principales tipos de interacción: carga-carga, carga-dipolo y dipolo-dipolo. Cuando se inducen los dipolos, la fuerza de interacción depende del momento dipolar y de la polarizabilidad, formando un complejo de transferencia de cargas. La refractividad molar refleja los cambios en las propiedades debido a la polarización o a la deformación de las capas de electrones de los iones por la influencia de cargas vecinas. Por esto la refractividad molar representa un descriptor molecular importante para aproximar las interacciones con la diana (Schaeffer, 2008). (Cruz, 2015).

Se continúa con el análisis del filtro de Muegge el cual se encarga del estudio del peso molecular, el cual lo establece de 200-600 Da, para este filtro la molécula de clorhexidina si lo cumple ya que posee un peso de 505.45 g/mol, (Tabla # 10). También el filtro de Muegge nos dice que la molécula debe poseer un Log P de -2 a 5, la molécula de clorhexidina como se ha expuesto anteriormente si cumple este parámetro (2.79). Para los grupos aceptores y donadores de H, el filtro de Muegge establece que la molécula debe poseer menos de 10 aceptores de H y menos de 5 donadores de H, la molécula de clorhexidina cumple con la cantidad de átomos aceptores de H, ya que posee 4 átomos, pero la cantidad de donadores si incumple ya que posee 10 átomos donadores de H. Por otro lado, el filtro de Muegge nos establece que la molécula debe tener menos de 15 enlaces rotables y la molécula original de clorhexidina viola este parámetro establecido ya que posee 17 enlaces rotables, (Tabla # 10), se puede decir que la molécula de clorhexidina es muy flexible y esto se puede apreciar en el diagrama que aparece en la tabla 3. La zona rosada en forma de rombo predice el espacio adecuado para una buena bio-disponibilidad oral.

Además, el filtro de Muegge establece el parámetro para el área polar superficial topológica (TPSA) el cual es de  $150 \text{ \AA}^2$  y la molécula original de clorhexidina viola este parámetro establecido ya que posee un área polar superficial topológica de  $167.58 \text{ \AA}^2$ , (Tabla # 10). El área polar superficial está definida por la superficie de las uniones de van der Waals que ocupan los átomos de oxígeno y nitrógeno polares unidos a estos heteroátomos, por lo que están relacionados con los donadores y aceptores de hidrógeno. Los fármacos administrados oralmente con un área polar superficial mayor a  $120 \text{ \AA}^2$  difícilmente se absorben de forma pasiva transcelular en intestino. Y los fármacos con un área polar superficial menor al rango  $60\text{-}70 \text{ \AA}^2$ , son prácticamente permeables, pero tienen la capacidad de ingresar a través de la barrera hemato-encefálica, factor que debe estar condicionado al objetivo terapéutico de la molécula (Kelder et al., 1999). (Cruz, 2015). La molécula de clorhexidina posee un valor más elevado de lo proporcionado por el filtro de Muegge ( $167.58 \text{ \AA}^2$ ), al ser un valor que determina la absorción del fármaco en el organismo no se le da mucho énfasis, pero se busca la optimización de este valor en los análogos, para probar que entre más parámetros cumplan los análogos mejor afinidad de unión presentan.

Finalmente, se presenta el análisis de los parámetros físico-químicos proporcionado por el filtro de Veber, el cual se encarga del estudio de los aceptores y donadores de H, pero este difiere a los otros parámetros de los filtros ya que Veber solo menciona que la molécula debe poseer menos de 12 aceptores y donadores de H y la molécula de clorhexidina no cumple con este parámetro según los datos dados por el programa SwissAdme, (Tabla # 10). Por otro lado, el filtro Veber también tiene parámetros para los valores de TPSA el cual lo define como menor a  $140 \text{ \AA}^2$  y la molécula original de clorhexidina viola este parámetro ya que posee un valor de  $167.58 \text{ \AA}^2$ . Y el último parámetro que define el filtro de Veber son la cantidad de enlaces rotables que debe poseer la molécula la cual debe ser menor de 10 enlaces rotables, la molécula original de clorhexidina incumple este valor al tener 17 enlaces rotables, (Tabla # 10).

Se sabe que los enlaces rotables, el área polar superficial y la cantidad de donadores y aceptores de hidrógeno son predictores para una buena biodisponibilidad oral, además los mismos tienden a aumentar con la masa molecular de manera directa (Veber et al, 2002). La masa molecular junto con el número de átomos de la molécula y la refractividad molar, se relacionan directamente con el tamaño molecular. Y el log P y la refractividad molar son características que influyen fuertemente con la unión de la diana mediante interacciones hidrofóbicas y fuerzas de van der Waals (Ghose et al, 1999) (Cruz, 2015). Para la molécula de clorhexidina el número de enlaces rotables (17) sobrepasa los especificados por los filtros, lo cual le proporciona a la molécula una mayor flexibilidad y libertad de movimiento, dicha flexibilidad es buena para la molécula para que la misma busque la mejor posición de unión con la diana. Pero también puede ocasionar que la molécula no llegue a su destino debido a la flexibilidad de la misma y se una a otra diana molecular, al tener grupos rígidos en la molécula se agrega selectividad por su diana.

Cuando una molécula se une a una diana, disminuye su libertad de movimiento, por lo que pierde entropía, esto provoca que se oponga a las fuerzas de atracción que impulsan dicha unión. Debido a esto, se sabe que si una molécula tiene mayor restricción de movimiento (rigidez), tendrá mayor afinidad, pues el cambio de entropía no será tan importante como para afectar la libertad de la molécula (Chang, Chen, & Gilson, 2007). Además de la entropía, se involucra la entalpía, la cual compensa el cambio de entropía

mencionado, esto se conoce como la cooperatividad a la unión. Una molécula con mayor rigidez no tendrá un cambio de entropía tan elevado por lo tanto esta será más fácilmente compensada por la entalpía (Ferrante & Gorski, 2012). (Cruz, 2015).

De igual manera la especulación sobre el mecanismo, se respalda con el artículo de los hermanos Epanand (2009) el cual mencionan que la membrana juega un papel importante en muchos de los mecanismos de toxicidad de estos agentes, ya sea como objetivo del compuesto anti-microbiano, el cual dañaría la membrana o como una barrera que el agente antimicrobiano debe atravesar para acceder a un objetivo intracelular. Los mecanismos de daño a la membrana generalmente, se han centrado en cómo un agente catiónico antimicrobiano puede alterar la organización de la bicapa de la membrana formando poros.

El un mecanismo más específico para romper la barrera de permeabilidad de las membranas que involucra al agente catiónico anti-microbiano que induce la separación de los componentes lipídicos, lo que resulta en la agrupación de lípidos aniónicos y posiblemente la formación de defectos de límite de fase entre dominios lipídicos, los cuales son responsables de las fugas intracelulares. En contraste, cuando los dominios lipídicos se separan de manera aguda como consecuencia de la adición de un agente antimicrobiano, no hay tiempo suficiente para que la membrana se reorganice para acomodar este cambio en la organización. Tal mecanismo puede ser particularmente importante para compuestos antimicrobianos que tienen una secuencia rica en residuos catiónicos y tienen flexibilidad conformacional que puede adaptarse a la distancia entre cargas en la superficie de la membrana (Epanand & Epanand, 2009).

Los factores que facilitarían la interacción preferencial con los lípidos aniónicos y la promoción de la segregación de fases son:

1. La presencia de múltiples grupos catiónicos que permiten que una molécula del agente antimicrobiano interactúe con varias moléculas de lípidos aniónicos.
2. Una flexibilidad conformacional para facilitar la adopción de una conformación en la que la distancia entre las cargas positivas coincide con la distancia entre los lípidos aniónicos en la membrana bacteriana después de la agrupación.
3. Ser suficientemente hidrofóbico para dividir espontáneamente en una membrana.

Los mejores análogos elaborados a partir de la molécula original de clorhexidina, son el análogo 6 (Tabla # 12), el análogo 36 (Tabla # 13) y el análogo 41 (Tabla # 14). Por otra parte, las tablas # 10, # 12, # 13, # 14, # 15 y # 16 fueron cuadros que se elaboraron de manera propia para ayudar a la visualización de los resultados. La predicción de los grupos farmacóforos de la molécula se realizó experimentalmente, ya que conforme se iban realizando las modificaciones y se creaban los análogos de la molécula original de clorhexidina, se fue observando que grupos funcionales eran vitales para la molécula y su respectiva actividad antimicrobiana esto por medio de sus energías de unión a las dianas moleculares (fosfatoetanolamina (PE), fosfatoglicerol (PG) y cardiolipina (CA)), (Anexo 1).

Uno de los múltiples fundamentos que se tomaron en cuenta para la elaboración de los 51 análogos (Anexo 1), fue la modificación de diferentes grupos funcionales utilizando técnicas de química medicinal como lo son: modificación de grupos polares y no polares. Se elaboraron análogos que tuvieran en su estructura grupos funcionales polares como ácidos carboxílicos, aminas, grupos funcionales como lo son hidrozonas, oximas, iminas, amidas y grupos cetónicos. De estos grupos polares los grupos cetónicos arrojaron buenos resultados a pesar de ser grupos electronegativos, por la presencia del grupo oxígeno, pero se observó que estos presentan interacción con las cabezas polares de los fosfolípidos de membrana (PE, PG, CA). Además, se observó que al elaborar análogos sin grupos amino en la estructura no se obtenían buenas energías de unión con las dianas moleculares por lo cual se determinó que estos son grupos importantes para la actividad de la molécula. Por otro lado, la agregación de grupos no polares a diversos análogos como lo fueron grupos como: éter, éster, epóxidos, benzaldehído y halogenuros de ácido, no arrojaron buenas energías de unión con las dianas ya mencionadas.

También se utilizaron técnicas bioisosterismo clásico y el bioisosterismo no clásico, las cuales se fundamentan como el remplazo de un átomo por otro que presente las mismas propiedades físico-químicas, se sabe que el átomo de flúor (4.0) es más electronegativo que un átomo de H (1.4), para nuestro objetivo se buscaba un átomo que fuera menos electronegativo que el átomo de Cl presente en la molécula original de clorhexidina, ya que según la electronegatividad de Pauling el átomo de cloro tiene una electronegatividad de 3.0, se elaboraron análogos en donde se removía el grupo Cl de la molécula y se pudo observar que este grupo funcional es importante para la actividad la molécula, ya que sin estos grupos, los análogos presentaban malas energías de unión. Y cuando se incorporaron grupos Br en la molécula se mejoraron las energías de unión ya que este es menos electronegativo (2.8). De igual manera se elaboraron análogos con átomos que presentaran valores electronegativos menores que el del Br como lo fue el átomo de P con una electronegatividad de 2.1, a pesar de ser menos electronegativo que el átomo de Cl se creía que estos análogos con el grupo P iban a tener buenas energías de unión, pero se tuvo que refutar dicha teoría por que no fue así.

Esta modificación de grupos Cl por grupos Br entra en la clasificación de una modificación por bioisosterismo clásico, ya que ambos grupos funcionales se encuentran en la misma categoría de átomos monovalentes pero difieren mucho en la masa molecular ya que un átomo de Cl pesa (35.45g/mol) y un átomo de Br pesa (79.90), por lo que varios de los análogos tenían pesos moleculares elevados y este factor es de suma importancia porque se sabe por medio de la teoría, que las bacterias presentan poros en las membranas externas, permeables a sustancias con un peso menor de 600 Da y si se pasaba mucho del peso de los análogos se pondría plantear la hipótesis de que la molécula podría presentar dificultades a la hora de atravesar esa membrana externa característica de las bacterias Gram negativas y no llegar a la membrana citoplasmática a producir su acción antimicrobiana.

Otra de las hipótesis que surgieron en la elaboración de los análogos, fue si se le agregaba a los análogos más átomos de cloro con el fin de potenciar la acción del mismo átomo de cloro, esta hipótesis venia respalda por el pensamiento, que 2 átomos de cloro pesan aproximadamente lo mismo que pesa un átomo de bromo, se puso en práctica la hipótesis y se observó que a aumentar los átomos de Cl la molécula presentaba más

repulsión debido a la electro-negativa con las dianas y las energías de unión no eran favorables, lo cual concluyó con la modificación máxima de 2 átomos de Cl por análogo o 2 átomos de Br por análogo. También se elaboraron análogos con átomos que fueran menos electronegativos y con menor peso molecular que el átomo de bromo, pero estos no presentaban capacidad de formar enlaces covalentes como en el caso de los metales (Fe, Cr, Cu) por lo cual no fueron análogos exitosos (Graham, 2017).

Otro de los fundamentos para la elaboración de análogos fue la apertura de ciclos pero los análogos que se elaboraron bajo este fundamento no presentaron buenas energías de unión, por lo cual se predijo que los anillos aromáticos presentes en la molécula original de clorhexidina son importantes para la actividad de la misma, además del resultado experimental de este descubrimiento se le agrega el fundamento teórico que nos dice que los anillos aromáticos son capaces de formar enlaces de van der Waals con sus objetivos moleculares. Una vez que quedó claro que los anillos aromáticos tenían que estar presentes en los análogos se hicieron varias modificaciones en la posición de sustituyentes (orto, meta y para) para observar cual posición presentaba mejor interacción con la diana.

Cabe destacar que los grupos aromáticos son menos solubles que los anillos no aromáticos, esta afirmación será destacada más adelante, porque una vez que se fundamentó la importancia de los grupos aromáticos en la molécula, se da la formación de nuevos ciclos en los análogos, pero estos no serían más anillos aromáticos debido al aumento del peso molecular que le confieren los dobles enlaces de los mismos, por esto se decidió la formación de ciclos normales y también ciclos con grupos N en su estructura, así como epóxidos, ninguno de estos 2 últimos resultaron destacables, la mejor predicción resultó de la formación de ciclos normales con diferentes tipos de sustituyentes como: cetonas, alcoholes, aminas. Los anillos que presentaron mejor afinidad fueron los que tenían grupos cetónicos en su estructura (Graham, 2017).

Otra de las modificaciones realizadas a la molécula original de clorhexidina, que derivó muchos de los análogos realizados se basó en una de las teorías de química medicinal, la cual es la reducción de la hidrocarbonada, la teoría respalda esta acción de recortar las moléculas siempre y cuando no se tengan sustituyentes importantes en dicha cadena hidrocarbonada, se realizaron análogos los cuales presentaban cadenas hidro-

carbonadas largas, otros análogos presentaban cadenas hidro-carbonadas medias y cortas, no se observó mayor diferencia a la hora de analizar este factor con sus respectivas energías de unión. Entonces lo que determino el largo de la cadena hidro-carbonada de los mejores análogos elaborados fue el peso molecular que esta aportaba al total del análogo molecular que se creaba.

La simetría de la molécula original de la clorhexidina es una de las características llamativas de la misma, a lo que se hace referencia es que la molécula es similitud estructural de un extremo de la molécula con el otro extremo, ya que ambos presentan los grupos cloros en posición para del anillo aromático y la similitud estructural en la posición de los sustituyentes de un extremo de la cadena con el otro. Se sabe que la simetría molecular tiene relación directa con el momento dipolar que presenta la molécula, al tener una molécula química simetría estructural mayores serán sus momentos dipolares. Este factor se puso en práctica al realizar análogos sin dicha cualidad. Y los análogos que presentaron una mejor energía de unión con sus dianas moleculares fueron aquellos que poseían dicha similitud estructural de un extremo con su otro extremo, entonces al ser esta una característica fisicoquímica exitosa la mayoría de los análogos la presentan.

La rigidez de la molécula también es un parámetro importante ya que al conferirle a la molécula cierto grado de rigidez se puede forzar que se dé la unión con su diana molecular, pero de igual manera se le agrega selectividad por su objetivo, por el otro lado, la flexibilidad puede generarle a la molécula un mejor movimiento para buscar la mejor unión con su objetivo, pero de igual manera le confiere menos selectividad poniendo ocasionar que el fármaco no llegue a su destino. La molécula original de clorhexidina presenta 2 anillos aromáticos que se clasifican como grupos rígidos, se trató de sustituir estos grupos rígidos por otros grupos rígidos como triples enlaces, este a pesar de ser una modificación respaldada por la teoría no se obtuvieron buenos resultados, y al remover estos grupos rígidos tampoco se obtuvieron buenos resultados, siendo estos destacables para la acción de la molécula.

Otro factor fisicoquímico de relevancia para la molécula original de clorhexidina es la permeabilidad que presenta la molécula por la piel, la cual se podría decir que es casi nula, gracias al valor obtenido por la aplicación SwissADME el cual es de  $-9.33$  cm/s. La piel es el órgano de mayor tamaño en el cuerpo humano, la cual está constituida por la epidermis dermis y subcutis. La función primaria de la piel es la protección frente a agentes ambientales, tanto físicos (radiación UV, calor, frío), como químicos y microbiológicos, la piel también participa en la termorregulación, actúa como órgano sensorio y tiene funciones endócrinas (síntesis de vitamina D y conversión de feromonas (Villarino & Landoni, 2006, p. 2).

El estrato córneo está constituido por células muertas que poseen en su interior una proteína insoluble, amorfa y rica en sulfuro llamada queratina. Estas células están rodeadas de una capa lipídica continua constituida por ceramidas, ácidos grasos y colesterol, a la que se denomina bicapa lipídica intercelular, esta estructura funciona como una barrera altamente lipofílica, la cual evita la pérdida excesiva de agua y previene la penetración de moléculas. El modelo que describe la organización del estrato córneo se conoce como: “ladrillos y cemento”. De acuerdo a este modelo, los corneocitos queratinizados conforman una barrera de alta tortuosidad (espacial) que dificulta el pasaje de moléculas lipídicas, asimismo, los lípidos hidrofóbicos organizados intercelularmente como láminas finas firmemente agrupadas incrementan la impermeabilidad del estrato córneo, en este caso específicamente para sustancias hidrofílicas (Villarino & Landoni, 2006, p. 3).

Según Villarino & Landoni (2006), hacen la afirmación que el estrato córneo posee carga negativa, las moléculas catiónicas no penetrarán fácilmente el estrato córneo. Esta afirmación podría ser básica para explicar por qué la molécula de clorhexidina al estar cargada positivamente no tiene buena permeación en la piel. Para el caso de la molécula de clorhexidina presentar un valor negativo de permeabilidad en piel, es un resultado positivo ya que esto nos garantiza, su seguridad de uso, al no ser absorbida no hay riesgos de efectos secundarios o toxicidad en el organismo. Los modelos matemáticos de permeabilidad de la piel son muy relevantes para los campos de administración transdérmica de fármacos, estos

se conocen como el nombre de modelos cuantitativos de estructura-relación de permeación (QSPR) (Mitragotri *et al.*, (2011)).

La gran mayoría de los modelos QSPR proporcionan algoritmos para calcular  $K_p$  cuando se supone que el vehículo es acuoso. Esto ha sucedido por dos razones principales: Primero, con el tiempo, se ha acumulado una base de datos sustancial de valores de  $K_p$  determinados experimentalmente a partir de vehículos acuosos, lo que permite comparar directamente las predicciones teóricas con mediciones reales. En segundo lugar, es probable que sea necesario un parámetro físico-químico que permita la estimación de  $K$  para utilizar cualquier algoritmo desarrollado para el cálculo de  $K_p$ , que se define como el flujo en estado estacionario de químicos a través de la piel. El candidato más obvio a este respecto es el coeficiente de partición octanol-agua,  $P$ , cuyos valores para muchos miles de productos químicos están disponibles en la literatura (Mitragotri *et al.*, 2011).

Potts y Guy, (1992), aprovecharon una gran compilación de los coeficientes de permeabilidad de la piel publicados a partir de una solución acuosa del trabajo de Fynn, 1990 para generar un QSPR que ahora es el modelo más citado y aplicado para predecir la permeabilidad de la piel, donde las unidades de  $K_p$  son cm/s. Basándose en el tamaño permeante [volumen molecular (MV) o el peso molecular (MW)] y octanol / coeficiente de partición agua ( $K_{oct}$ ). El análisis presentado es un medio fácil para predecir el flujo percutáneo de compuestos farmacológicos y tóxicos únicamente en función de sus propiedades físico-químicas.

La molécula original de clorhexidina presenta un elevado peso molecular y un coeficiente de partición en octanol y agua de 2.79, como se menciona más adelante, un correcto valor de coeficiente de partición de octanol y agua, deberá ser un valor negativo y cercano a -2, estas características de la molécula original de clorhexidina, ocasiona que la misma tenga un valor de  $\log K_p$  (permeación de la piel) de -9.33 cm/s siendo un valor relativamente malo para la absorción de la molécula por el estrato corneo pero para el objetivo principal de la molécula es un valor relativamente bueno, ya que nos garantiza seguridad a la hora de usarla.

Según Villasmil (2011) la difusión pasiva de los fármacos a través de la piel está condicionada por Potts y Guy (1992):

Tabla 11. Condiciones para la difusión pasiva a través de la piel

La penetración de las moléculas polares o hidrofílicas pequeñas es controlada por el estrato córneo.
Las moléculas hidrofóbicas están controladas por el grado de partición que tengan entre el estrato córneo y la epidermis.
El coeficiente de partición octanol/agua de la molécula es muy importante, especialmente para moléculas de polaridad intermedia, debido a la naturaleza de la piel y al trayecto de la difusión, de manera que su incremento favorece la permeación: un $K_{oct/w}$ de -2 se puede considerar ideal.
El peso molecular es inversamente proporcional al coeficiente de permeación.
Una molécula no ionizada se reparte mejor dentro de la membrana lipofílica, por lo que se debe tener en cuenta el pH de la superficie de la piel, que está en torno a 4 – 5 unidades y su buena capacidad buffer, lo cual podría cambiar el estado de ionización de la molécula con el que se encuentra en el vehículo que la contiene.
La oclusión de la piel facilita la hidratación del estrato córneo, lo que incrementa la penetración y permeación.
La penetración y difusión a través de la piel aumenta considerablemente cuando existe daño del estrato córneo.

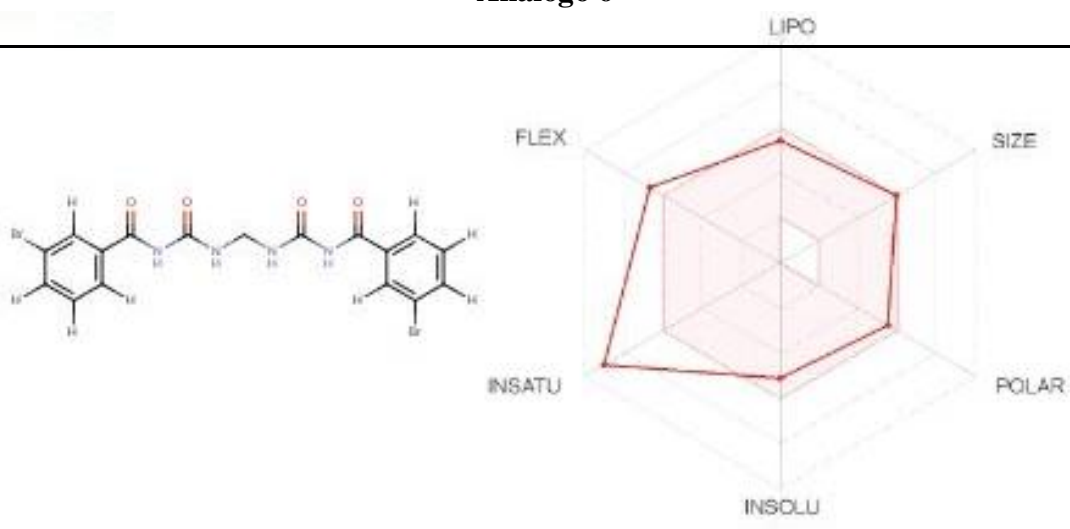
Fuente: Elaboración propia basado en Potts y Guy (1992).

El análogo 6 presenta características que prueban una buena biodisponibilidad y cumple los filtros de druglikeness. Para iniciar el análisis físico-químico del análogo número 6, (Tabla # 12). Se hace énfasis en el diagrama proporcionado por la aplicación SwissADME, dicho diagrama marca una zona rosada en forma de rombo, que garantiza una buena biodisponibilidad oral de los fármacos y la similitud que presenta el análogo número 6, con dicha zona, es resultado que nos dice que al cumplir con los parámetros proporcionados por los filtros de druglikeness. La molécula presenta mayor selectividad tendrá la molécula por sus objetivos moleculares (PE, PG, CA), (Tabla # 15).

Este análogo molecular de clorhexidina, cumple con todos los parámetros fisicoquímicos establecidos por los filtros de druglikeness de Lipinski, Muegge y Veber, pero para el filtro de Ghose, específicamente el parámetro establecido para masa molecular es cual es de 160-480 Da con un rango preferencial de 230- 390 Da, lo viola debido a que el análogo número 6 posee un peso molecular de 498.13.

Cabe destacar que los valores de Log Po/W el cual es un valor que nos dice la solubilidad en lípidos que posee e análogo fue de 2.38 siendo menor que el valor de lipofilicidad que posee la molécula original de clorhexidina el cual es de 2.79, (Tabla # 10) Y el valor de Log S/Delaney el cual es valor que nos dice la solubilidad del análogo en medios acuosos es de -5.10 casi el doble que la posee la molécula origina de clorhexidina - 2.16 (Tabla # 10). Ambos valores del análogo 6, son negativos respecto a los de la molécula original, pero a pesar de esto, el análogo 6 presenta mejores energías de unión con sus dianas moleculares (Tabla # 15).

Tabla 12. Propiedades fisicoquímicas del análogo 6 de la molécula clorhexidina

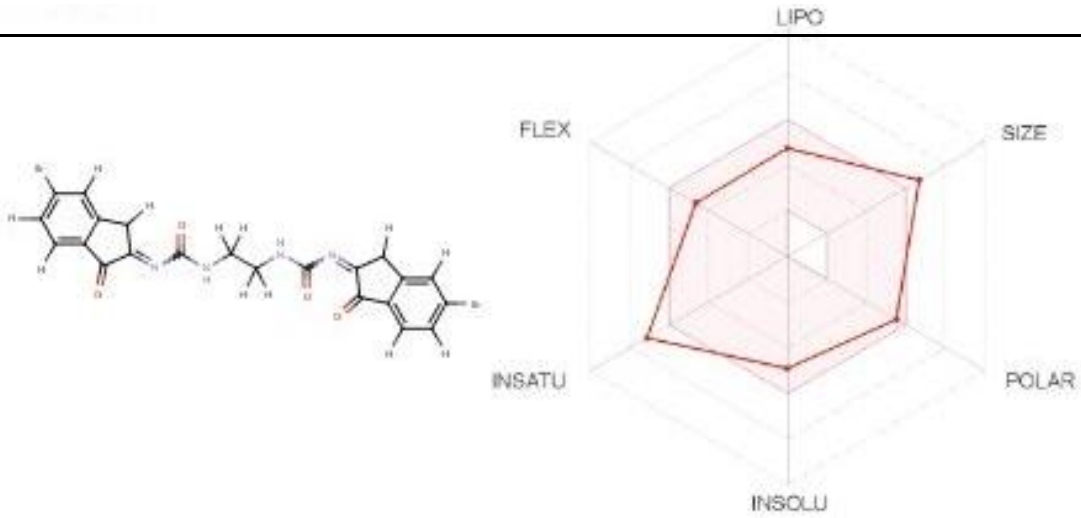
<b>Análogo 6</b>			
			
<b>Fórmula empírica</b>	<b>C17H14Br2N4O4</b>	<b>Refractividad molar (MR)</b>	<b>103.75</b>
<b>Masa molecular</b>	<b>498.13 g/mol</b>	<b>Área de superficie polar topológica (TPSA)</b>	<b>116.40 Å<sup>2</sup></b>
<b>Número de enlaces rotables</b>	<b>10</b>	<b>Log Po/w consenso</b>	<b>2.38</b>
<b>Número de aceptores de H</b>	<b>4</b>	<b>Log S (delaney)</b>	<b>-5.10</b> <b>Moderamente Soluble</b>
<b>Número de donadores de H</b>	<b>4</b>	<b>Log Kp (permeación de la piel)</b>	<b>-6.52 cm/s</b>
<b>Lipinski</b>	<b>0 violaciones</b>	<b>Muegge</b>	<b>0 violaciones</b>
<b>Ghose</b>	<b>1 violaciones</b> <b>MM 160-480</b>	<b>Veber</b>	<b>0 violaciones</b>

El análogo número 36 (Tabla # 13). Presenta similitud con el diagrama de la zona rosada en forma de rombo, y de los 3 mejores análogos e incluyendo a la molécula original de clorhexidina es el que mejor relación tiene con la zona marcada para una buena bio-disponibilidad oral. Dicha relación puede verse reflejada en sus energías de unión en la tabla 8, siendo este análogo el que mejor presento energías de unión de los 51 análogos diseñados.

El cumplimiento de los parámetros físico-químicos establecidos por los filtros de druglikeness de dicho análogo los cumple, a criterio personal de buena manera difiriendo solo en la masa molecular para 2 de los filtros mencionados. Pero se razona que debido a la gran cantidad de átomos que presenta la molécula, la misma tiene 22 átomos de carbono igual que la molécula original de clorhexidina, posee 4 átomos de oxígeno y 4 átomos de nitrógeno, en este análogo se probó la efectividad de los grupos Br y la formación de un ciclo nuevo en la molécula con sustituyentes cetónicos en los ciclos nuevos, de igual manera se dio la sustitución de la posición para en que venían los Cl en la molécula original clorhexidina, por la colocación meta de los grupos Br del análogo 36, el análogo 6 también presenta sus grupos Br en posición meta. Al igual se optimizó la molécula agregando más grupos cetónicos que ya se habían demostrado su eficacia en el análogo 6

Otro aspecto que se modificó del análogo 36 (Tabla # 13) en comparación con el análogo 6 (Tabla # 12) fue la instauración de la molécula es decir la presencia de dobles enlaces, ya que el análogo 36 presenta doble enlaces en la cadena y el análogo 6 no los presenta y los valores de Log Po/w del análogo número 36 es de 3.54 siendo mayor que el de la molécula original de clorhexidina el cual es de 2.79 (Tabla # 10), este aumento de lipofilidad tiene relación con los valores de energía de unión que se obtuvieron de este análogo siendo el mejor resultado el del blanco molecular de fosfatoetanolamina (PE) (Tabla # 15), cuyo componente de membrana es el mayoritario de la cepas de E. coli y P. aeruginosa, siendo este el resultado más destacado de todos los acoplamientos moleculares elaborados.

Tabla 13. Propiedades físico-químicas del análogo 36 de la molécula clorhexidina

<b>Análogo 36</b>			
			
<b>Fórmula empírica</b>	<b>C<sub>22</sub>H<sub>16</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub></b>	<b>Refractividad molar (MR)</b>	<b>125.64</b>
<b>Masa molecular</b>	<b>560.19 g/mol</b>	<b>Área de superficie polar topológica (TPSA)</b>	<b>117.06 Å<sup>2</sup></b>
<b>Número de enlaces rotables</b>	<b>7</b>	<b>Log Po/w consenso</b>	<b>3.54</b>
<b>Número de aceptores de H</b>	<b>6</b>	<b>Log S (delaney)</b>	<b>-4.89</b> <b>Moderamente Soluble</b>
<b>Número de donadores de H</b>	<b>2</b>	<b>Log Kp (permeación de la piel)</b>	<b>-7.74 cm/s</b>
<b>Lipinski</b>	<b>1 violaciones</b> <b>MM &gt; 500</b>	<b>Muegge</b>	<b>0 violaciones</b>
<b>Ghose</b>	<b>1 violaciones</b> <b>MM 160-480</b>	<b>Veber</b>	<b>0 violaciones</b>

El análogo número 41, presenta (Tabla # 14), la similitud del análogo con el diagrama de la zona rosada del rombo. Siendo el análogo de los 3 mejores resultados el que posee mayor instauración. Esto debido a la presencia de dobles enlaces y anillos en la molécula

De igual manera el cumplimiento de los parámetros físico-químicos a partir de los filtros de druglikeness, son variados para este análogo, cumpliendo solamente el filtro de Lipinski en su totalidad. Para el filtro de Ghose pasándose el análogo número 41 con un peso de 485.23g/mol, siendo esta diferencia para cumplir el filtro de 5 g/mol muy pequeña no lo cumple. Por otro lado, el filtro de Muegge, el análogo posee un valor de TPSA de 151.20 Å<sup>2</sup> pasándose por 1.20 Å<sup>2</sup> no lo cumple y el filtro de Veber al igual que el de Muegge solo que establece el parámetro de TPSA en un valor menor a 140 Å<sup>2</sup>.

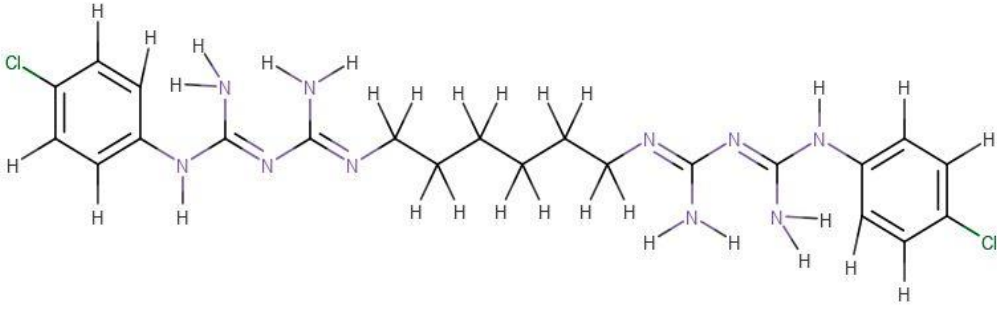
Este análogo número 41 (Tabla # 14) se basó en la modificación de análogo 36 (Tabla # 13) pero se quiso mantener la identidad de la molécula original de clorhexidina dejando los sustituyentes cloros en el anillo aromático de la molécula, solo que se modificó la posición para por la posición meta de los sustituyentes en los anillos aromáticos. Para los valores de Log Po/w el análogo 41 presentó un valor de 1.99 siendo menor que el de la molécula original de clorhexidina 2.79 y el valor de Log S/Delaney fue de -4.53 siendo mayor que el de la molécula original de clorhexidina que fue de -2.16, (Tabla # 10). Cabe destacar que de los 3 mejores análogos no se mejoró la solubilidad en agua de ninguno comparado con la molécula original de clorhexidina.

Tabla 14. Propiedades físico-químicas del análogo 41 de la molécula clorhexidina

<b>Análogo 41</b>			
<b>Fórmula empírica</b>	<b>C<sub>21</sub>H<sub>10</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub></b>	<b>Refractividad molar (MR)</b>	<b>120.07</b>
<b>Masa molecular</b>	<b>485.23 g/mol</b>	<b>Área de superficie polar topológica (TPSA)</b>	<b>151.20 Å<sup>2</sup></b>
<b>Número de enlaces rotables</b>	<b>6</b>	<b>Log Po/w consenso</b>	<b>1.99</b>
<b>Número de aceptores de H</b>	<b>8</b>	<b>Log S (delaney)</b>	<b>-4.53</b> <b>Moderamente Soluble</b>
<b>Número de donadores de H</b>	<b>2</b>	<b>Log Kp (permeación de la piel)</b>	<b>-7.38 cm/s</b>
<b>Lipinski</b>	<b>0 violaciones</b>	<b>Muegge</b>	<b>1 violaciones</b> <b>TPSA&gt;150</b>
<b>Ghose</b>	<b>1 violaciones</b> <b>MM 160-480</b>	<b>Veber</b>	<b>1 violaciones</b> <b>TPSA&gt;140</b>

El enlace de afinidad entre un receptor y su respectiva diana, está dado por el scoring, es cual consiste en un modelo físico que estima la suma las energías electrostáticas y las interacciones de Van der Waals. El modelo empírico se basa en las propiedades fisicoquímicas como puentes de hidrógeno, cambios de entropía y contactos hidrofóbicos (Tuccinardi,2009). Recordando que la energía libre de Gibbs en un proceso de acoplamiento molecular, entre un ligando y su diana menciona entre menor sea el cambio en energía ( $\Delta G < 0$ ) el proceso de unión será más exergónico (libera energía), lo que se considera termodinámicamente más favorable. En esta investigación se muestra el cambio en la energía libre de Gibbs para la unión de Clorhexidina con sus blancos moleculares (Tabla # 15). Por otro lado, las energías de unión que mostraron los mejores 3 análogos, (Tabla # 16) a sus respectivas dianas moleculares.

Tabla 15. Energías de unión de la molécula Clorhexidina y los componentes de membrana. Valores representados en valores absolutos y unidades de kcal/mol.

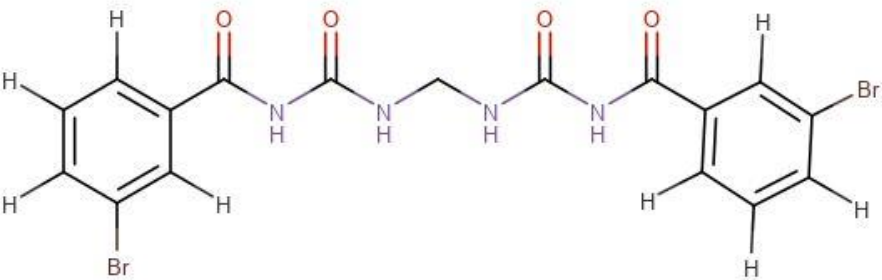
<b>Molécula Original</b>	<b>PE</b>	<b>PG</b>	<b>CA</b>
	<b>-4.4</b>	<b>-4.5</b>	<b>-4.7</b>

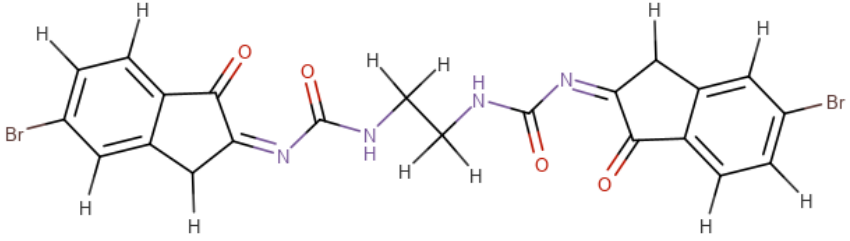
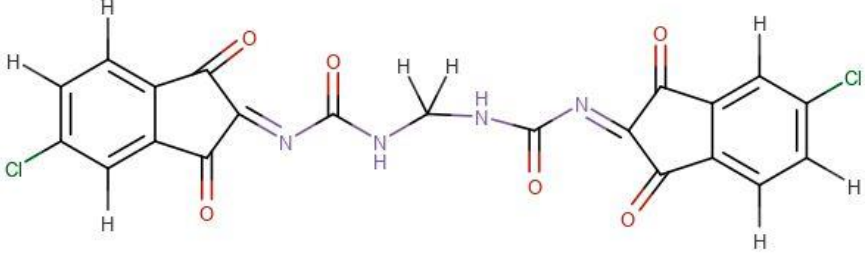
Fuente: Elaboración propia.

Los ligandos diseñados en su mayoría presentan grupos amidas, cetónicos, cloro o bromo, anillos aromáticos y dobles enlaces. Estos grupos se identificaron como, los posibles farmacóforos de la molécula, debido a que los análogos elaborados sin estos grupos no presentan buenas energías de acoplamiento con las dianas moleculares. Al contrario de los mejores 3 análogos diseñados (Tabla # 16), se logra apreciar que estos grupos sustituyentes dotaron a la molécula para lograr mejores energías de unión, en otras palabras, con estos análogos se observa una afinidad más favorable con respecto a la molécula original de clorhexidina.

Además, reflejan la posibilidad de los diseños seleccionados como los mejores 3 resultados de los 51 análogos producidos para futuras pruebas *in vitro* para evaluar la activación del receptor. Asimismo, se muestra el análogo 36 alcanzó la mayor afinidad con una energía de unión de -6.4 Kcal/mol para la diana molecular de fosfatoetanolamina (PE), que como se ha mencionado anteriormente en la investigación esta diana molecular es la más destacable, debido a que la membrana bacteriana de los microorganismos seleccionados, *E. coli* y *P. aeruginosa* es la que ocupa el mayor porcentaje de composición bacteriana siendo de 80% y 60% para los microorganismos mencionados anteriormente. Difiriendo este valor un valor de -2Kcal/mol con respecto a la energía de unión de la molécula original con la PE, la cual fue de -4.4 Kcal/mol (Tabla 15).

Tabla 16. Estructura y energías de unión de los mejores 3 análogos y los componentes de membrana. Valores representados en valores absolutos y unidades de kcal/mol.

<b>Análogo 6</b>	<b>PE</b>	<b>PG</b>	<b>CA</b>
	<b>-5.6</b>	<b>-5.4</b>	<b>-4.8</b>

<p><b>Análogo 36</b></p> 	<b>-6.4</b>	<b>-5.7</b>	<b>5.8</b>
<p><b>Análogo 41</b></p> 	<b>-5.9</b>	<b>-5.7</b>	<b>-5.1</b>

Fuente: Elaboración propia

A continuación, se presenta una serie de figuras que exhiben la visualización de la molécula original de clorhexidina y la forma en que se acopla a sus respectivas dianas moleculares (PE, PG y CA), (Figura # 46 y # 47). Se observa en la imagen 46 como la molécula de clorhexidina se acopla con enlaces en color rojo todo el componente de membrana bacteriana fosfatoetanolamina (PE). En la molécula original de clorhexidina los átomos de color rosado representan los grupos N, por otro lado, los átomos de color verde presentan los átomos de Cl y los átomos grises son átomos de la cadena hidrocarbonada. En la misma imagen 46 se observa la visualización de la molécula original de clorhexidina y el componente de membrana fosfatoglicerol (PG) en este caso la molécula se acopla de manera diferente pero igual se aprecian los enlaces con el color rojo. En la imagen 47 se aprecia la forma de acople de la molécula original de clorhexidina y el componente de membrana cardiolipina (CA), la forma de acople es similar al de la clorhexidina con PG.

Figura 46. Visualización molécula original de clorhexidina y PE (izquierda) y PG (derecha)

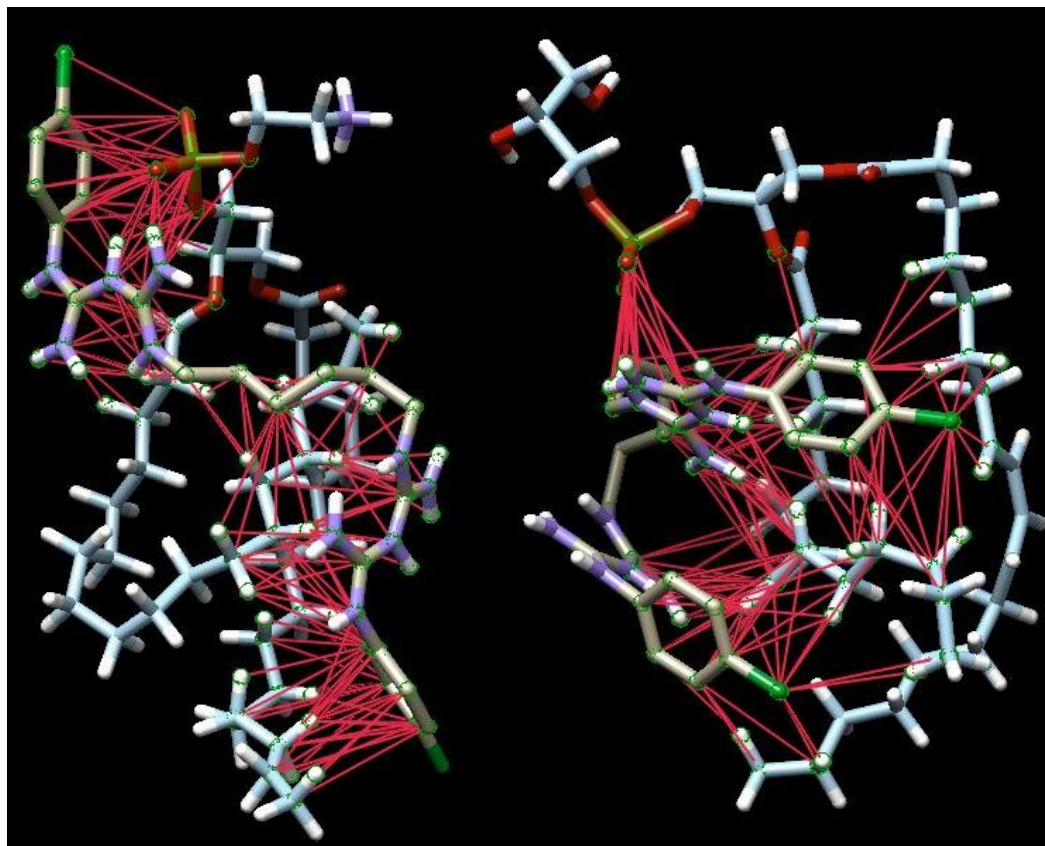


Figura 47. Visualización molécula original de clorhexidina y CA

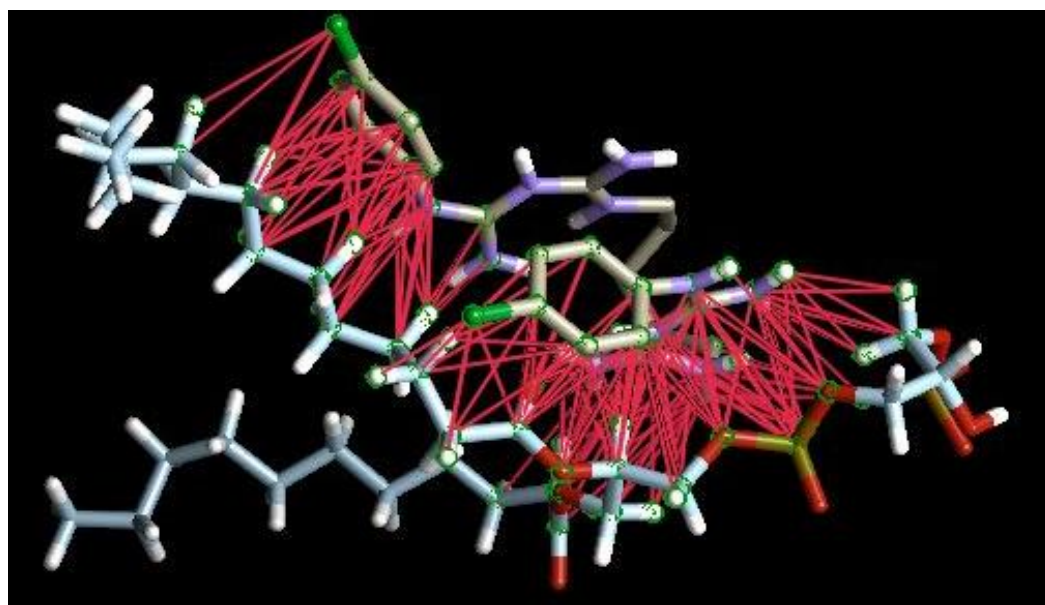


Figura 48. Visualización del análogo 6 con PE (izquierda) y PG (derecha)

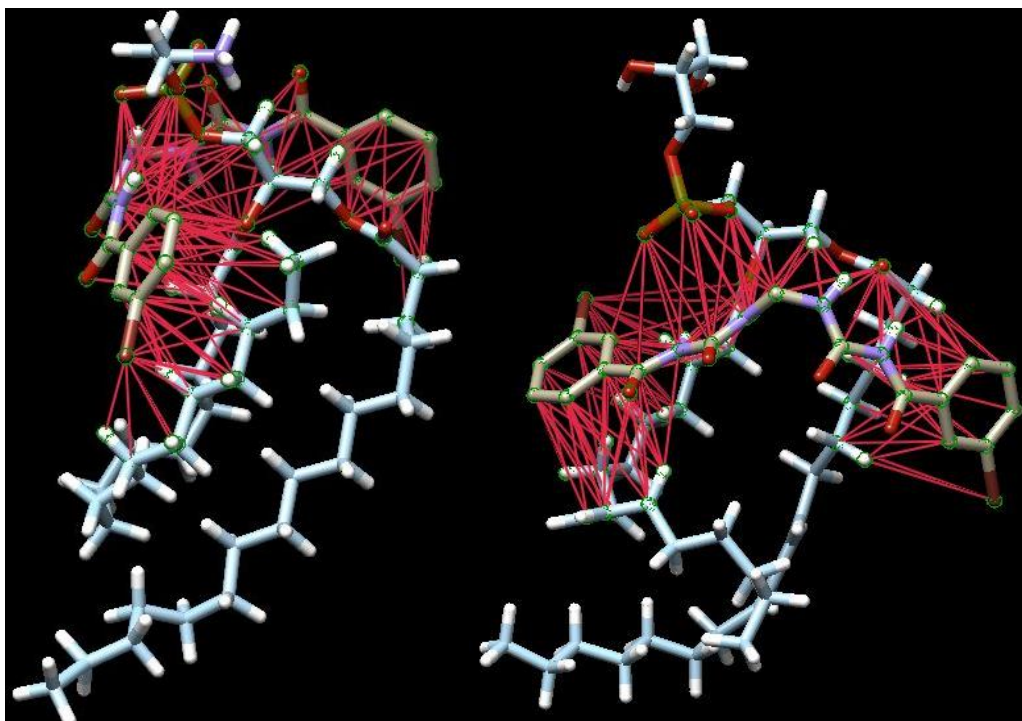
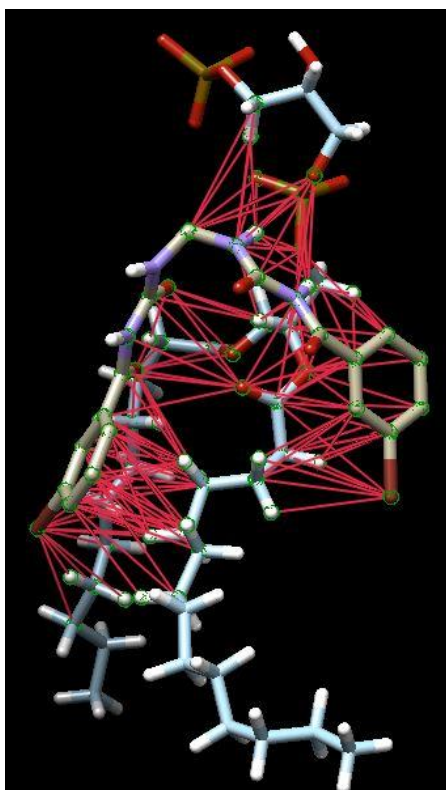


Figura 49. Visualización del análogo 6 con CA



La forma en que se acopla el análogo 6, el 36 y 41 a los diferentes componentes de membrana es similar en los 9 casos, se aprecia como los análogos de la molécula de clorhexidina “abrazan” a los componentes de membrana por medio de los enlaces de color rojo. Esta visualización le da fundamento al mecanismo de acción propuesto por los autores Epanand & Epanand (2009). Los átomos de color rojo oscuro en la molécula son átomos de Br, los átomos rosados son átomos N y O y los átomos grises son la cadena hidrocarbonada.

Figura 50. Visualización del análogo 36 con PE vista adelante y atrás del acoplamiento.

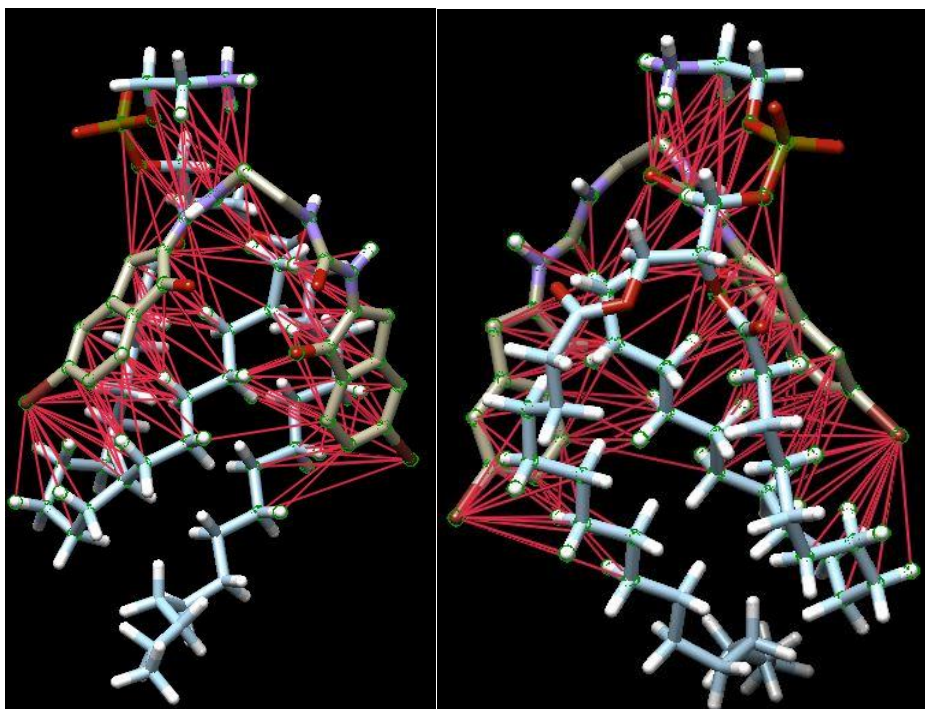


Figura 51. Visualización del análogo 36 con PG (izquierda) y CA (derecha)

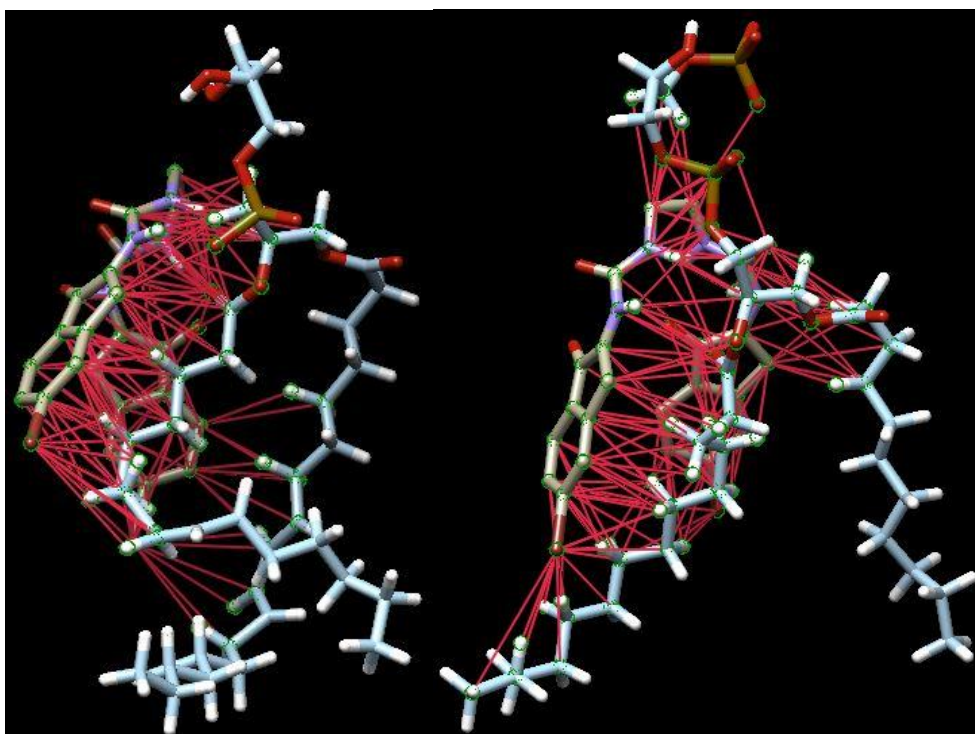


Figura 52. Visualización del análogo 41 con PE (izquierda) y PG (derecha)

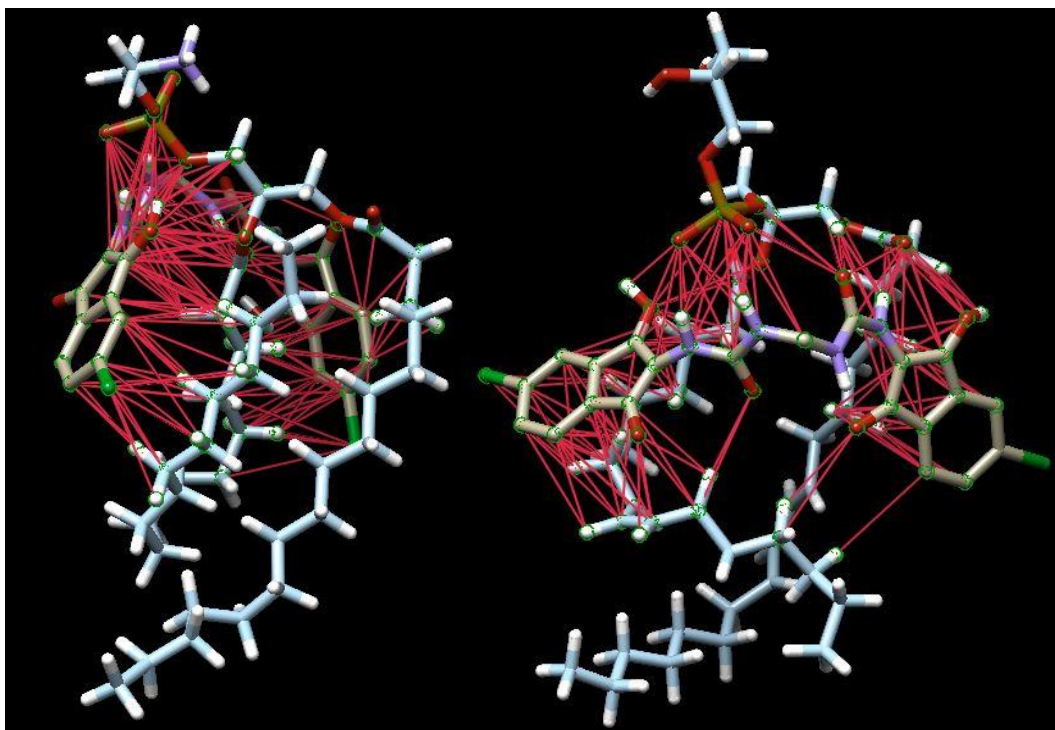
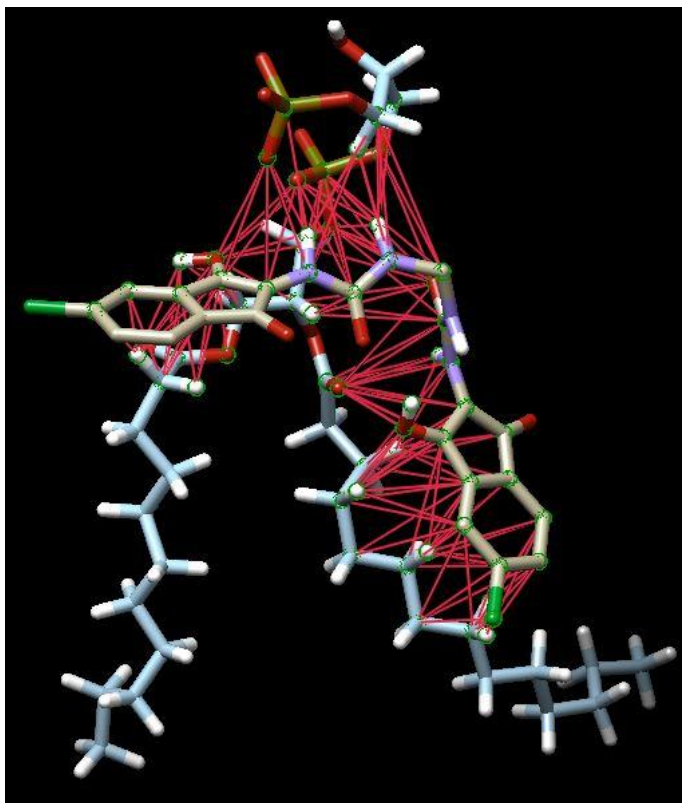


Figura 53. Visualización del análogo 41 con CA



## CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### Conclusiones

Además, se analizó el mecanismo de acción antimicrobiano que presenta la molécula original de clorhexidina en diferentes microorganismos, por lo tanto, se concluye que esta molécula de clorhexidina sigue siendo efectiva contra un amplio espectro de bacterias Gram positivas y Gram negativas, también presenta actividad contra virus encapsulados. Pero es ineficaz sobre hongos y esporas de hongos. Al ser una sustancia que no presenta absorción sistémica, esta cualidad le ha otorgado un gran historial de seguridad para su uso.

Se logró evidenciar un listado de usos que presenta la molécula en el ámbito de salud hospitalario, ya que la misma es usada para procesos que van desde un lavado antiséptico, lavado quirúrgico, baños con clorhexidina o baños en cama con paños impregnados de clorhexidina y preparación del sitio operatorio, y como procesos invasivos que son: administración de medicamentos I.V, aplicación de catéteres venosos centrales y periféricos para evitar infecciones, al igual de las sondas vesicales causantes de infecciones urinarias y procesos de ventilación mecánica asociados a neumonías. De igual manera la molécula de clorhexidina presenta diversos usos en el campo odontológico, desde usos profilácticos hasta tratamientos contra la gingivitis, enfermedad periodontal y el tratamiento de las infecciones de boca como: la estomatitis, la estomatitis ulcerativa.

Mediante el uso de diferentes técnicas *in silico*, se analizaron las propiedades físico-químicas de la molécula original de clorhexidina y a partir de estas propiedades y los parámetros de los filtros de druglikeness se llevó a cabo la producción (el diseño) de diferentes análogos de clorhexidina los cuales presentaron diversos valores de energías de unión con sus respectivas dianas moleculares, los componentes de membrana bacteriana (PE, PG y CA) siendo el más importante para esta investigación la fosfatoetanolamina (PE) ya que es el componente más abundante en *Escherichia coli* (80%) y *Pseudomonas aeruginosa* (60%).

En los análogos elaborados se logra apreciar que estos, si cumplen los parámetros violados por la molécula original de clorhexidina lo que los lleva a una mejor energía de unión con las dianas moleculares. Finalmente, se concluye con 51 análogos de clorhexidina, diseñados por modificaciones *in silico*, usando fundamentados de criterios de química medicinal como lo fueron, sustituciones de grupos polares y no polares, bioisosterismo clásico y no clásico, apertura de ciclos y formación de nuevos ciclos, simplificación y extensión de la cadena hidro-carbonada, de los 51 análogos elaborados, se seleccionaron los que presentaron mejor unión con la diana. Los cuales fueron el análogo 6 con una energía de -5.6 para PE, -5.4 para PG y -4.8 para CA, el análogo 36 fue el análogo más relevante de todos ya que presento una diferencia de 2 con respecto a su afinidad por el componente de membrana PE, el cual fue de -6.4 y para PG de -5.7 y CA de -5.8. Y el análogo 41 es el favorito porque se mantuvo la identidad original de la molécula de clorhexidina, al mantener los grupos Cl dentro de la estructura, este tuvo una energía de unión para PE de -5.9 para PG de -5.7 y CA de -5.1.

## Recomendaciones

La investigación realizada sugiere que es necesario que los estudiantes de farmacia se interesen e indaguen más en esta rama de la química medicinal, ya que esta puede ser la llave para abrir nuevas puertas que llevan a la creación de nuevos componentes con actividades farmacológicas o a la optimización de compuestos ya existentes con el fin de mejorar desde propiedades fisicoquímicas hasta propiedades farmacocinéticas (ADME) que pueden llevar a la cura de enfermedades o este caso encontrar componentes que sean más potentes hacia microorganismos causantes de enfermedades nosocomiales.

De igual manera se recomienda la implementación de protocolos de seguimientos hacia las normas correctas de antisepsia para diversos centros de salud en el país como lo son EBAIS, clínicas y hospitales, que logren verificar el apego de los profesionales de salud hacia estos protocolos, siendo la antisepsia una de las técnicas más fáciles y más eficaces para luchar contra las infecciones nosocomiales, pero el verdadero reto está en garantizar el apego a estos protocolos de antisepsia por parte de los profesional de salud.

Seguir investigando en el tema puede llevar a la obtención de un compuesto que logre ser más eficaz que la molécula original de clorhexidina debido a que con el aumento de la resistencia antimicrobiana que viene en aumento desde los últimos años, se sigue con la interrogante, que es si en el futuro habrá compuestos capaces de ganarles a estas bacterias, este tema nos concierne a todos. Pero es deber de las compañías farmacéuticas invertir en investigación y desarrollo para lograr dar con un hit que lleve a este objetivo

Se propone crear una formulación farmacéutica que contenga uno de los 3 mejores análogos elaborados, contemplando la necesidad de mejorar la solubilidad en agua del mismo, haciendo uso de compuestos que aumenten la solubilidad del mismo, pero dejando de lado el complejo gluconato y proponiendo estudiar a profundidad e implementar el uso de la betaína y compuestos como pullulan inclusive ciclodextrinas con el fin de mejorar la estabilidad en agua del análogo. Al igual de la posibilidad de sintetizar uno de los 3 mejores análogos para posteriores estudios in vivo, para estudiar los posibles anillos de inhibición y medir la diferencia de la capacidad antimicrobiana in vivo del análogo y la nueva formulación comparada con la clorhexidina convencional.

## BIBLIOGRAFÍA

- Sánchez Saldaña, L., & Sáenz Anduaga, E. (2005). ANTISÉPTICOS Y DESINFECTANTES. *Dermatología peruana*, 82-103.
- (OMS), O. M. (4 de Enero de 2018). *Formulario Modelo 2004*. Obtenido de Seccion 15. Desinfectantes y Antisepticos : <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s5422s/s5422s.pdf>
- Alberca, L. (2018). BÚSQUEDA ASISTIDA POR COMPUTADORA DE NUEVOS FÁRMACOS ANTICHAGÁSICOS ANÁLOGOS DE POLIAMINAS. *Tesis para optar por el grado academico de Doctorado en la UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA*, 1-188.
- Arce Villalobos, M., González Rodríguez, M., Alpízar Montero, B., Reyes Rojas, E., Vargas Campos, E., Acedo Vasquez, I., . . . Blanco Peña , K. (2019). PLAN DE ACCION NACIONAL DE LUCHA CONTRA LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS COSTARICA 2018-2025. *Alcance No.1 a la Gaceta No.3*, Autorizado por Dra Guiselle Amador Muñoz, Ministra Salud. 42.
- Arias Flores, R., Rosado-Quiab, U., Vargas Valerio, A., & Grajales Muñoz, C. (2016). Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales en el Instituto Mexicano del Seguro Social . *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 20-24.
- Berlanga, M., & Guerrero, R. (2017). La complejidad de lo simple: la célula bacteriana. *Química Viva*, 1-10.
- Bilbao, N. (2009). Antisépticos y desinfectantes. *EL SERVIER*, 37-39.
- Brunton, L., Lazo, J., & Parker, K. (2007). *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Mexico: MCGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A.
- Burguillos Ros, L. (2018). RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN PSEUDOMONAS AERUGINOSA: SITUACIÓN EPIDEMOLÓGICA EN ESPAÑA Y ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTO. *Tesis para optar por grado licenciatura en farmacia en la Universidad de COMPLUTENSE*, 1-23.
- Cabrera Rodríguez, L., Díaz Rigau, L., Miralles Suárez, A., Ones Roque, R., Torres Herrera, Y., & Pantaleón Hernández, M. (2019). Efectividad in vitro de la amikacina y fosfomicina en cepas de Escherichia coli uropatógena multidrogresistente. *Universidad de Ciencias Médicas Holguín, Cuba*, 1-17.
- Canase, A., & Canase, A. (2012). *Manual de microbiología y parasitología medica* . Asuncion, Paraguay: Andres Canase.
- Castro Ruiz, J., Vallejo Díaz , B., & Barbosa Barbosa, H. (2016). Diseño de un sistema bioadhesivo de clorhexidina empleando pullulan como matriz para uso en mucosa oral. *Rev. Colomb. Cienci. Quim. Farm, Vol.45(1)*, 1-29.
- Castro, E. (2015). Norma de Utilización de Soluciones Antisépticas, Desinfectantes, y Detergentes de uso. *NEU Ministerios de Salud*.

- Chang, C., Chen, W., & Gilson, M. (2007). Ligand configurational entropy and protein binding. . *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1534-1539.
- Cheng, T., Li, Q., Zhou, Z., Wang, Y., & Bryant, S. (2012). Detección virtual basada en la estructura para el descubrimiento de fármacos: una revisión centrada en el problema. *The AAPS Journal*, 133-141.
- Cruz, C. (2015). *Identificación de un inhibidor de la proteasa NS3/NS2B en productos naturales descritos en la biodiversidad costarricense por técnicas de modelaje molecular para el diseño de un potencial prototipo de fármaco para el tratamiento del virus del dengue*. TESIS: Universidad Internacional de las Américas. San José, Costa Rica.
- Dicks, K., Lofgren, E., Lewis, S., Moehring, R., Sexton, D., & Anderson, D. (2016). A Multicenter Pragmatic Interrupted Time Series Analysis of Chlorhexidine Gluconate Bathing in Community Hospital Intensive Care Units. *Infect Control Hosp Epidemiol* , 791-797.
- Diomedi, A., Chacón, E., Delpiano, L., Hervé, B., Jemenao, I., Medel, M., . . . Cifuentes, M. (2017). Antisépticos y desinfectantes: apuntando al uso racional. *Revista Infectología Chilena*, 156-174.
- Do Nascimento, V., R Day, M., Doumith, M., Hopkins, K., Woodford, N., Godbole, G., & Jenkins, C. (2017). Comparación de los perfiles de resistencia a los antimicrobianos fenotípicos y derivados de WGS de *Escherichia coli* enteroagregativa aislada de casos de enfermedad diarreica en Inglaterra, 2015–16. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* , Volumen 72, Número 12, 9.
- Donskey, C., & Deshpande, A. (2016). Effect of chlorhexidine bathing in preventing infections and reducing skin burden and environmental contamination: A review of the literature. *American Journal of Infection Control*, 17-21.
- Epanand, R., & Epanand, R. (2009). Lipid domains in bacterial membranes and the action of antimicrobial agents. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Biomembranes*, 289-294.
- Eugenia Cabrera, C., Gómez, R. F., & Zúñiga, A. E. (2007). La resistencia Bacteriana a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colombia Medica*, 149-168.
- Fernández, S., & Larrañaga, E. (2012). *GUIAS DE PREVENCIÓN*. Montevideo: Casa de Galicia.
- Fernández Ferrer, A., Olivera Reyes, Y., Puig Miranda, Y., Rodríguez Méndez, A., & Pérez Vere, L. (2019). Infecciones-Nosocomial y resistencia antimicrobiana. *Revista Cubana de Medicina Intensiva y Emergencias*, 1-17.
- Ferrante, A., & Gorski, J. (2012). Enthalpy-entropy compensation and cooperativity as thermodynamic epiphenomena of structural flexibility in ligand-receptor interactions. *Journal of Molecular Biology* , 454-467.

- Font Maté, C. (2017). MODELADO MOLECULAR COMO HERRAMIENTA PARA EL DESCUBRIMIENTO DE NUEVOS FÁRMACOS QUE INTERACCIONAN CON PROTEÍNAS. *Tesis para optar por el grado de licenciatura de farmacia. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE*, 1-21.
- García López, Gallardo García , Rodriguez Pinto, Granados Martín, Viciano Ramos, Guitérrez Cobos, & Pinedo Sánchez. (2008). Distribucion de los patrones de sensibilidad de Escherichia Coli intrahospitalario y extrahospitalario y los fenotipos de resistencia asociados durante el año 2005. *Sociedad Española de Quimioterapia*, 157-165.
- Gareth, T. (2007). *Medicinal Chemistry an introduction* . West Sussex, England: John Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester.
- Ghose, K., Viswanadhan , V., & Wendoloski, J. (1999). A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. *Journal of Combinatorial Chemistry* , 1 , 55–68. DOI:10.1021/cc9800071.
- Graham, P. (2017). *An introduction to medicinal chemistry* . Oxford, University Press.
- Guillén Mayorga, D., Norma Hernández , D., García , F., & Monge, J. (2011). BROTE DE INFECCIÓN NOSOCOMIAL POR ESCHERICHIA COLI EN RECIEN NACIDOS EN GRACIAS,LEMPIRA. *Revista Medica Honduras Vol 79, No.1* , 1-6.
- Hernández , R., Fernández , C., & Baptists, P. (2014). *Metodología de la investigación*. México: McGraw Hill.
- Hernández, A., Yague, G., García Sánchez, E., Simón, M., Moreno Parrado, L., Canteras, M., & Gómez, J. (2018). Infecciones nosocomiales por Pseudomonas Aeruginosa multiresistente incluido carbapenemicos: factores predictivos y pronosticos. Estudio prospectivo 2016-2017. *Sociedad Española de Quimioterapia* , 123-130.
- Herruzo, R., Yela, R., & Vizcaino, M. (2015). Lasting hand self-disinfection: A backup for hospital hand hygiene. *American Journal of Infection Control*, 690-701.
- Kar , S., & Roy, K. (2013). How far can virtual screening take us in drug discovery. Expert Opinion on Drug Discovery. DOI: 10.1517/17460441.2013.761204, 245-261.
- Kelder, J., Grootenhuis , P., Bayada , D., Delbressine , L., & Ploemen, J. (1999). Polar molecular surface as dominating determinant for oral absorption and brain penetration of drugs . *Pharmaceutical Research* .
- Klompas, M. (2017). Oropharyngeal Decontamination with Antiseptics to Prevent Ventilator-Associated Pneumonia: Rethinking the benefits of chlorhexidine. *Semin Respir Crit Care Med*, 381-390.
- Leralta González, C. (2017). INFECCIONES NOSOCOMIALES, IMPORTANCIA DE PSEUDOMONASAERUGINOSA. *Trabajo Final de Grado*, 1-20.
- Lipinski , C., Lombardo, F., Dominy, B., & Feeney, P. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development

settings1PII of original article: S0169-409X(96)00423-1. . *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46. DOI: 10.1016/S0169-409X(00)00129-0.

- Lizarbe Iracheta, M. (2009). Bacterias y Virus ¿cómo nos defendemos? *Real Academia Ciencias Exactas Físicas y Naturales* , 115-172.
- Llop Hernández , A., Valdés-Dapeno , M., & Zuazo Silva, J. (2001). *Microbiología y Parasitología Médicas TOMO 1*. La Habana, Cuba: Ciencias Médicas .
- López González, L., Guitérrez Pérez, I., Villegas Menéndez, E., Aresté Lluch, N., Morato Agustín, L., & Pérez Cachafeiro, S. (2014). Introducción a los antisépticos . *EL SERVIER*, 1-9.
- Losada, I., Barbeito , G., García Garrote, F., Fernández Perez, B., Malvar, A., & Hervada, X. (2019). Estudio de sensibilidad de Escherichia coli productores de infecciones del tracto urinario comunitarias en Galicia. Período: 2016-2017. *Atencion Primaria y Grupo de trabajo de la SOGAMIC para el estudio de las resistencias en Galici*, 1-9.
- Lowe, C., Lloyd-Smith, E., Sidhu, B., Gordon, R., Sharma, A., Jang, W., . . . Romney, M. (2016). Reduction in hospital- associated methicilin-resistant Staphylococcus aureus and vancomycin resistant Enterococcus with daily chlorhexidine gluconate bathing for medical inpatients . *American Journal of Infection Control*, 1-5.
- Macías , J., Arreguin, V., Muñoz , J., Álvarez, J., Mosqueta, J., & Macías, A. (2013). Chlorhexidine is a better antiseptic than povidone iodine and sodium hypochlorite because of its substantive effect. *American Journal of Infection Control*, 7.
- Maguiña Vargas, C. (2016). Infecciones nosocomiales Hospital-acquired infections . *Acta medica peruana*, 175-179.
- Marín Sánchez, O., Vivas Ruiz, D., Neira, M., Sandoval, G., Marín Machuca, O., Rodríguez Landuro, A., & Chacón, R. (2019). Rol de los interferones tipo I y tipo III: Una revisión de conceptos. *Ágora Rev. Cient e6*, 1-8.
- Martinez Bagur, M. (2013). *GUÍA DE ANTISÉPTICOS*. HOSPITAL UNIVERSITARIO DE CEUTA: MINISTERIO DE SANIDAD, SERVICIOS SOCIALES E IGUALDAD.
- Martínez, J. M. (2015). Infecciones nosocomiales Pseudomonas Aeruginosa y su importancia, sus características y su resistencia a antimicrobianos . *Tesis para optar por la licenciatura de farmacia, Facultad de farmacia Universidad Complutense-Madrid, España* , 1-20.
- Maya, J. J., Ruiz, S. J., Pacheco, R., Valderrama, S. L., & Virginia Villegas, M. (2011). Papel de la clorhexidina en la prevención de las infecciones asociadas a la atención de salud. *ASOCIACIÓN COLOMBIANA DE INFECTOLOGÍA*.
- Medina, A. M. (2014). La resistencia a los antibióticos y la falta de interés de la industria farmacéutica . *Publicado por Elsevier España*.
- Mensa, J., Barberán , J., Soriano, A., Llinares, P., Marco, F., Cantón, R., . . . Oliver, A. (2018). Selección de antibióticos en el tratamiento de infecciones invasivas agudas por

- Pseudomonas aeruginosa* : Directrices de la Sociedad Española de Quimioterapia. *Rev Esp Quimioter*, 1-22.
- Merino, L. (2017). Fisiología bacteriana . *Facultad de Medicina - Microbiología e Inmunología*, 1-10.
- Mitragotri, S., Anissimov, Y., Bunge, A., Frasc, F., Guy, R., Hadgraft, J., . . . Roberts, M. (2011). Mathematical models of skin permeability: An overview. *International Journal of Pharmaceutics*, 115-129.
- Mollinedo Patzi, M. A., & Gonzales Villalobos , C. (2014). Bacterias Gram Negativas. *Revista Actualizacion Clinica*, 2609-2613.
- Montero, M. M. (2012). *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente: aspectos epidemiológicos, clínicos y terapéuticos. *tesis doctoral de la Universidad Autonoma de Barcelona- Departamento de Medicina* , 1-109.
- Moreno , F., Schade, A., Rivero, P., & Smith, C. (2015). Recomendaciones prácticas para la antisepsia y desinfección. *Microbiología Clínica*, 64-70.
- Muegge, I. (2003). Selection criteria for drug-like compounds. *Medicinal Research Reviews*, 303-321.
- Nodarse Hernández, D. (2002). Vision Actualizada de las Infecciones Intrahospitalarias . *Revista Cubana Med Milit*, 201-208.
- Nowotarska, S., Nowotarski, K., Friedman, M., & Situ, C. (2014). Efecto de la estructura sobre las interacciones entre cinco compuestos antimicrobianos naturales y fosfolípidos de la membrana celular bacteriana en monocapas modelo. *Molecules* , 7497-7515.
- Núñez Quispe, A. (2015). GUÍA DE PREPARACIÓN DE SOLUCIONES ANTISÉPTICAS Y DESINFECCIÓN DEL INSTRUMENTAL, EN EL HOSPITAL REGIONAL DOCENTE AMBATO”. *Tesis para optar por el grado de maestria en enfermeria quirurgica. Universidad Regional Autónoma de los Andes* , 106.
- Organizacion Mundial de la Salud. (2017). Prevencion y control de infecciones asociadas a la antecion de la salud: Recomendaciones Basicas. *Organizacion Panamericana de la Salud y Organizacion mundial de la salud*, 1-154.
- Ou-Yang, S.-S., Lu, J.-y., Kong, X.-q., Liang, Z.-j., Luo, C., & Jiang, H. (2012). Computational drug discovery . *Acta Pharmacologia Sinica*, 1131-1140.
- Pérez Cano, H. J., & Robles Contreras, A. (2013). Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana . *Reivista medica MD*, 1-6.
- Pettengill , E., Pettengill, J., & Binet, R. (2016). Phylogenetic analyses of shigella and enteroinvasive *Escherichia coli* for the identification of molecular epidemiological markers: whole-genome comparative analysis does no support distinct genera designation. *Frontiers in microbiology*, 1-11.
- Potts, R., & Guy, R. (1992). Prediciendo la permeabilidad de la piel . *La investigacion farmaceutica* , 663-669.

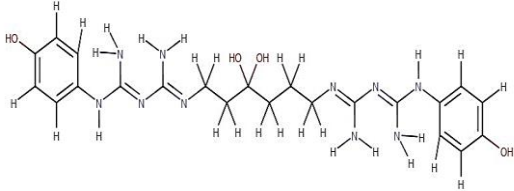
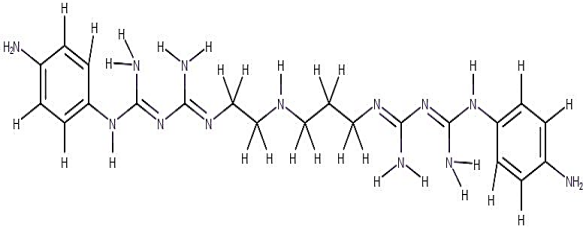
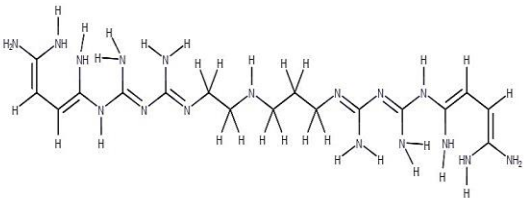
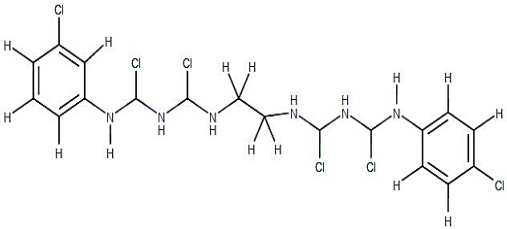
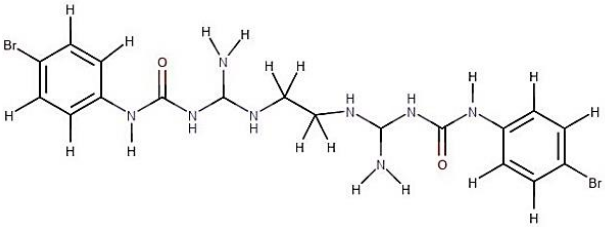
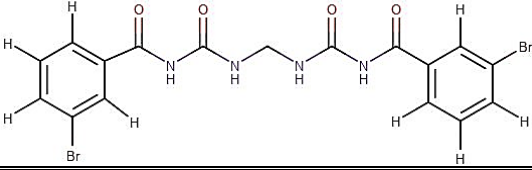
- Prescott, L., Harley, J., & Klein, D. (2004). *Microbiología 5 edición*. McGraw-Hill Interamericana.
- Rasko, D., Rosovitz, M., Myers, G., Mongodin, E., Frickie, F., Gajer, P., . . . Ravel, J. (2008). The pangenoma structure of *Escherichia coli*; comparative genomic analysis of *E. coli* commensal and pathogenic isolates. *Journal of bacteriology*, 6881-6893.
- Reese, S., Burnett, N., Smith, J., Escudero, H., Knepper, B., & Young, H. (2017). Hospital-wide chlorhexidine gluconate bed bathing protocol: A cross-sectional study in a single hospital. *American Journal of Infection Control*, 1-3.
- Reneé Romero, M., Papone, V., & Jiménez, C. (2016). Gluconato de clorhexidina: seguridad y eficacia como antiséptico en cirugía bucomáxilofacial. *Facultad de Odontología, Universidad de la Republica Montevideo, Uruguay*, 113-121.
- Rivera Mejía, R. I., Martel Duarte, D., & Azucena Rodriguez, C. (2017). "FACTORES ASOCIADOS A LA INCIDENCIA DE LAS INFECCIONES NOSOCOMIALES QUIRÚRGICAS, EN EL INSTITUTO NACIONAL CARDIOPULMONAR Y HOSPITAL DE ÁREA DR. ANÍBAL MURILLO; CONFORME LA TEORÍA DEL AMBIENTE Y DEL AUTOCUIDADO. Tesis para optar por el post grado en enfermería: Tegucigalpa, Honduras.
- Rodríguez Fernández, Z., Fernández López, O., Ochoa Maren, G., & Romero García, L. (2017). Algunas consideraciones sobre las infecciones posoperatorios. *Revista Cubana de Cirugía*, 46-58.
- Ruiz Campsb, I., & Moreno Camacho, A. (2014). Infección nosocomial en el paciente receptor de un trasplante de órgano solido o de precursores hematopoyéticos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clinica*, 386-395.
- Scior, T., Martines Morales, E., & Salinas Stefanón, E. (2007). Los modelos in silico, una herramienta para el conocimiento farmacológico. *Elementos 68*, 43-48.
- Siccha Flores, M., Bazán Perez, M., Guzman Trelles, G., Rodriguez Malaga, G., Munariz Loza, C., & Egoavil Tapia, E. (2008). Infección urinaria intrahospitalaria en los servicios de hospitalización de Medicina de un hospital general. *Rev Med Hered 19*, 1-7.
- Struthers, K. (2018). *Microbiología Clinica*. Ciudad de Mexico: El Manual Moderno S.A.
- Torres López, M., Díaz Álvarez, M., & Acosta Morales, A. (2009). La clorhexidina, bases estructurales y aplicaciones en; la estomatología. *Gaceta Medica Espirituana*, 10.
- Toure Lam, K. (2018). EVASIÓN PARASITARIA AL SISTEMA DEL COMPLEMENTO. Tesis para optar por el grado academico de licenciatura en farmacia. *Universidad COMPLUTENSE*, 1-23.
- Tuccinardi, T. (2009). Docking-Based virtual screening: Recent Developments. *Bentham Science Publishers.*, 303-314.
- Veber, D., Johnson, S., Cheng, H.-Y., Smith, B., Ward, K., & Kopple, K. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2615-2623.
- Villarino, N., & Landoni, M. (2006). ADMINISTRACIÓN TRANSDÉRMICA DE FÁRMACOS: UNA ALTERNATIVA TERAPÉUTICA. *Analecta Veterinaria*, 28-37.

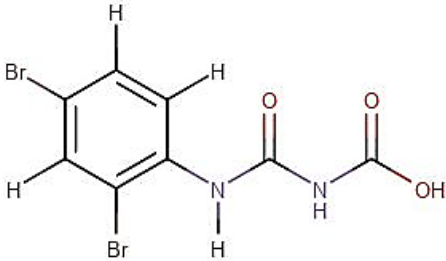
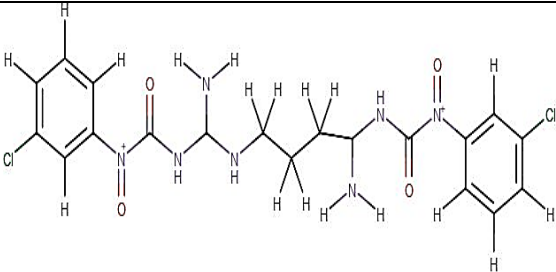
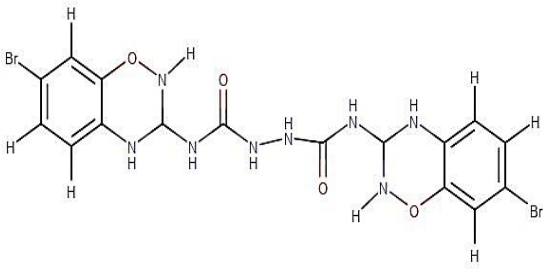
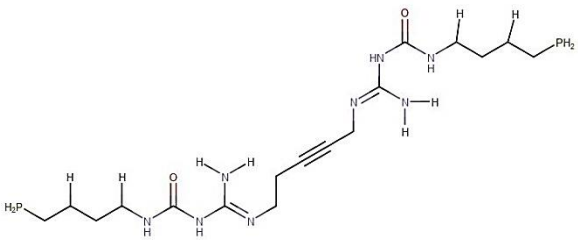
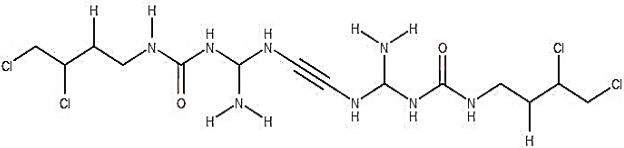
Weinstein, R., Milstone, A., Passaretti, C., & Perl, T. (2008). Clorhexidina: Expandiendo el Armamentarium para el Control y la Prevención de Infecciones. *HealthCareEpidemiology*, 274-281.

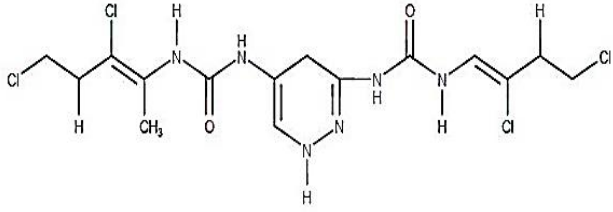
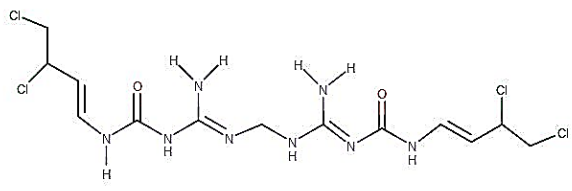
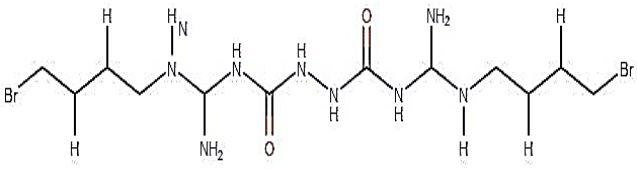
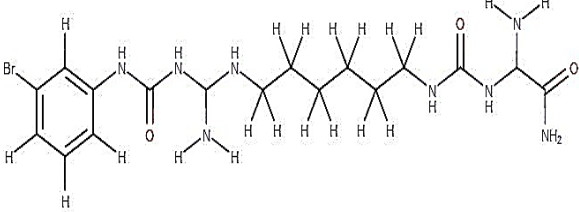
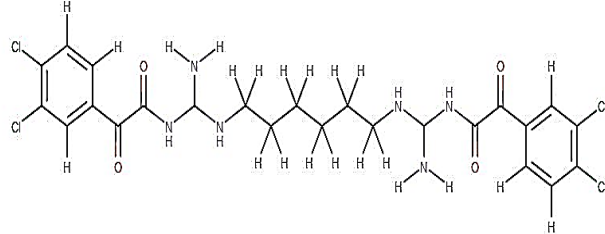
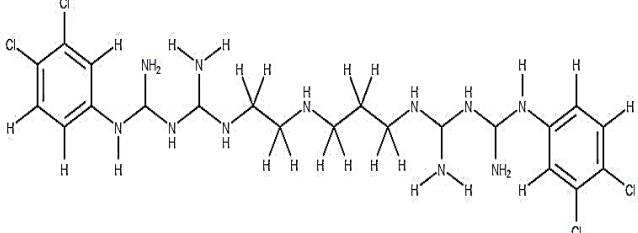
Wermuth, C., Aldous, D., Raboisson, P., & Rognan, D. (2015). *The Practice of Medicinal Chemistry 4 edition*. EL SERVIER .

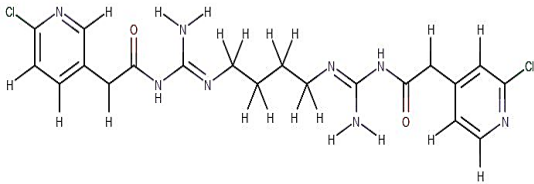
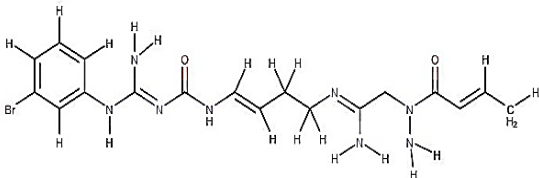
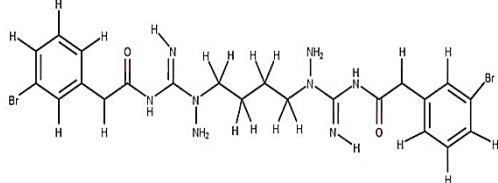
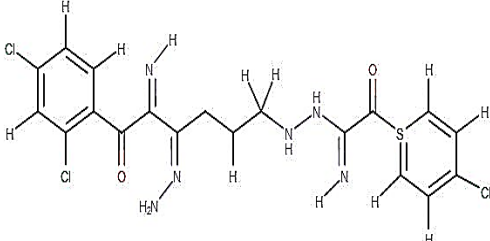
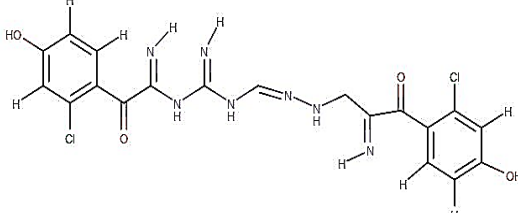
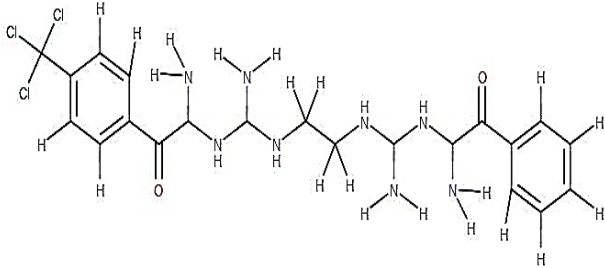
### Anexo 1

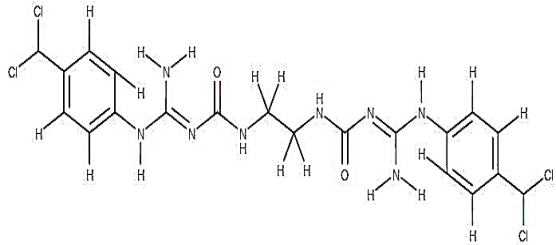
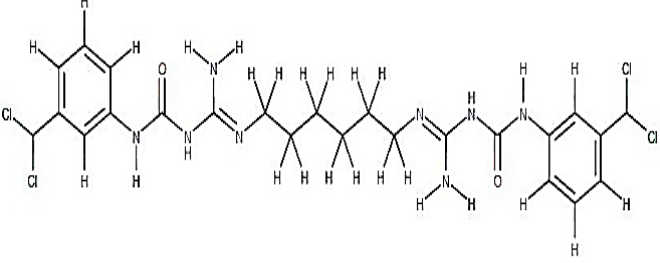
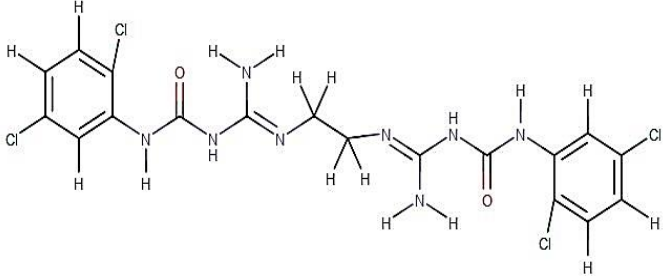
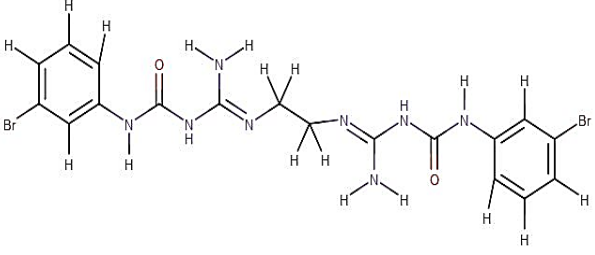
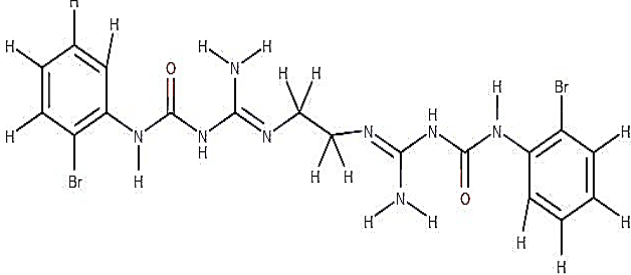
Análogos de clorhexidina y sus energías de unión a los componentes de membrana (PE, PG y CA). Valores representados en valores absolutos y unidades de kcal/mol.

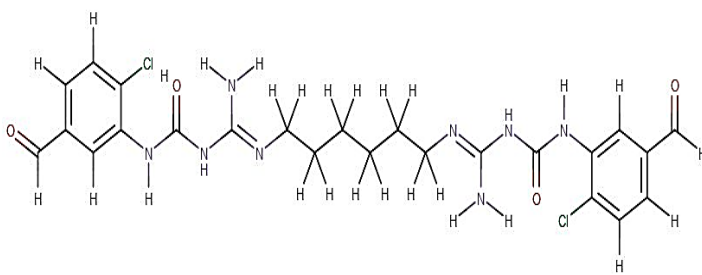
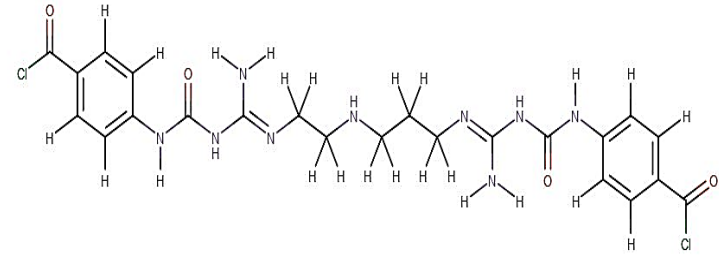
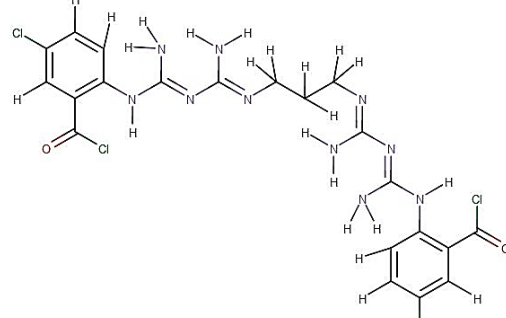
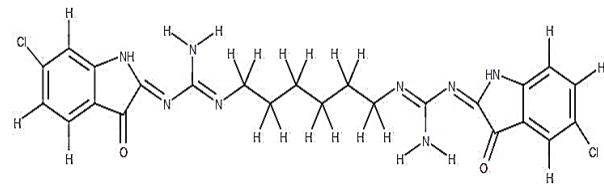
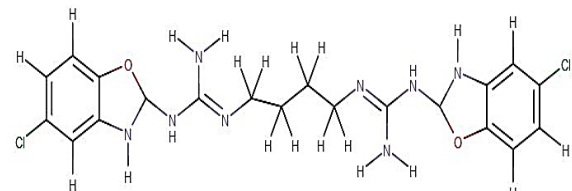
Análogo	PE	PG	CA
1. 	4.2	3.6	4.7
2. 	4.4	4.1	4.3
3. 	4.1	3.7	4.6
4. 	4.0	3.8	4.4
5. 	4.9	4.7	5.0
6. 	5.6	5.4	4.8

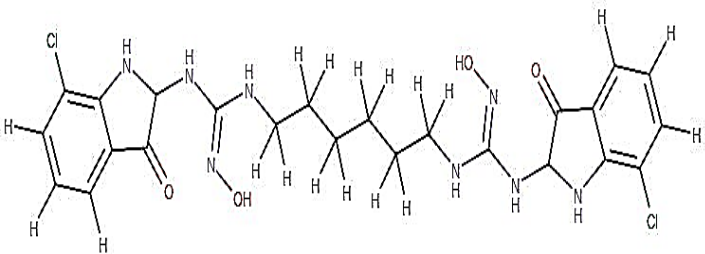
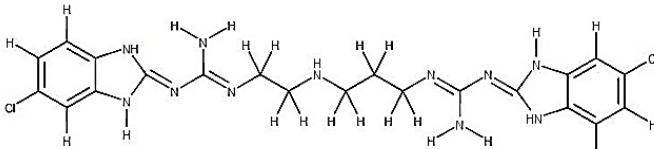
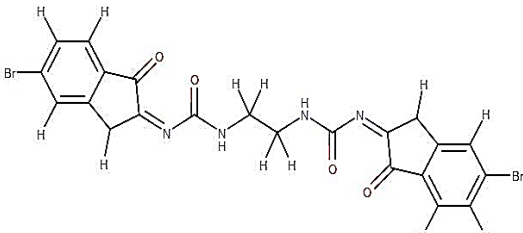
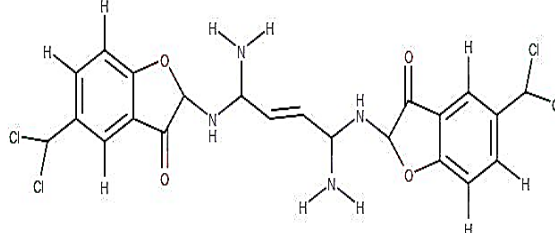
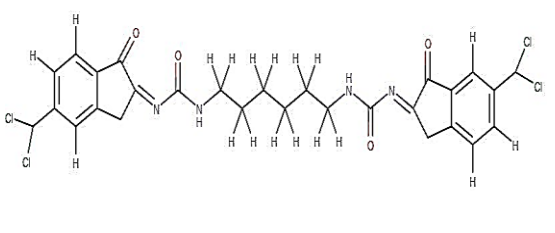
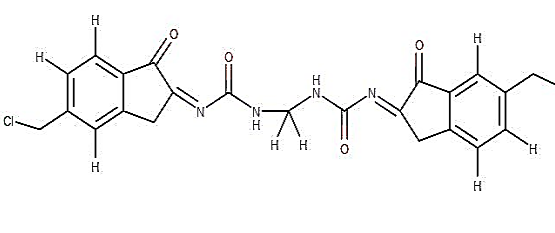
<p>7.</p>  <p>Chemical structure of 2-(2,4,6-tribromophenyl)acetamide. It consists of a benzene ring with bromine atoms at the 2, 4, and 6 positions, and an acetamide group (-NHCOOH) at the 1 position.</p>	3.8	3.4	3.3
<p>8.</p>  <p>Chemical structure of a complex amide. It features a central chain of amide and urea linkages. One end is attached to a 2-chlorophenyl ring, and the other end is attached to a 2,4,6-trichlorophenyl ring.</p>	3.9	3.9	4.1
<p>9.</p>  <p>Chemical structure of a complex amide. It features a central chain of amide and urea linkages. One end is attached to a 2-bromophenyl ring, and the other end is attached to a 2,4-dibromophenyl ring.</p>	3.7	5.3	5.4
<p>10.</p>  <p>Chemical structure of a complex amide. It features a central chain of amide and urea linkages. One end is attached to a propyl chain, and the other end is attached to a phenyl group.</p>	3.9	3.8	3.2
<p>11.</p>  <p>Chemical structure of a complex amide. It features a central chain of amide and urea linkages. One end is attached to a 2-chlorophenyl ring, and the other end is attached to a 2,4-dichlorophenyl ring.</p>	3.3	3.6	3.8

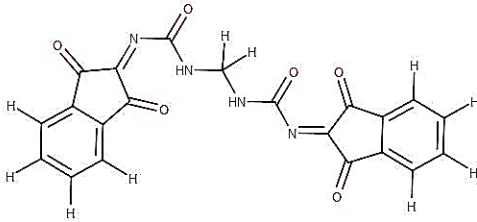
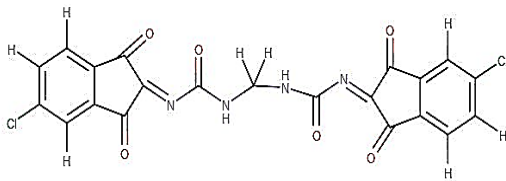
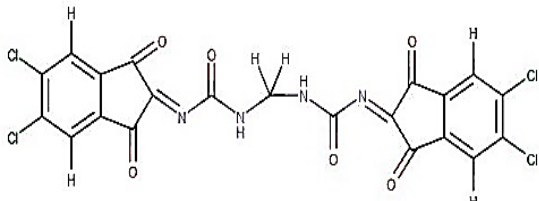
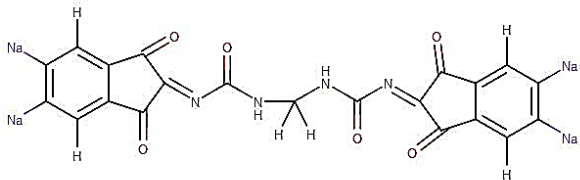
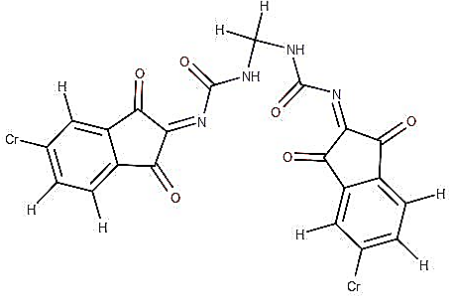
<p>12.</p> 	2.9	3.6	3.5
<p>13.</p> 	4.0	4.0	4.0
<p>14.</p> 	3.8	3.9	4.0
<p>15.</p> 	4.4	3.6	4.0
<p>16.</p> 	2.3	4.0	4.5
<p>17.</p> 	4.8	3.8	5.6

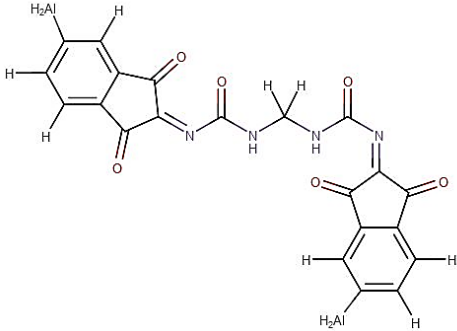
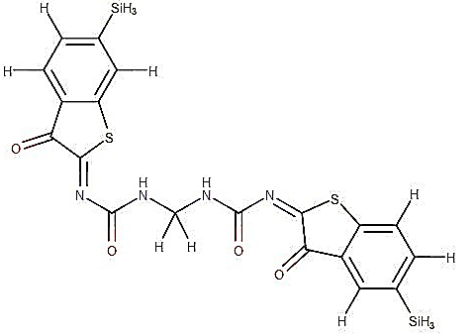
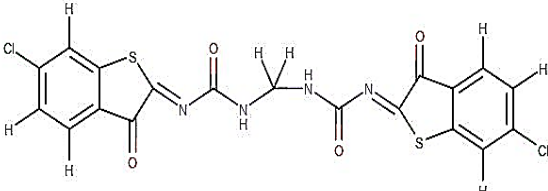
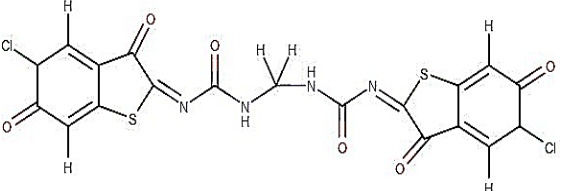
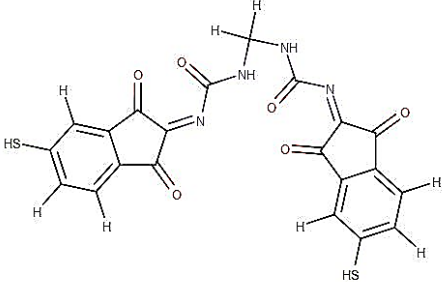
<p>18.</p> 	4.8	3.9	4.0
<p>19.</p> 	3.6	4.4	4.8
<p>20.</p> 	4.3	5.0	4.5
<p>21.</p> 	3.8	4.1	4.1
<p>22.</p> 	3.9	4.2	4.6
<p>23.</p> 	4.4	5.1	4.7

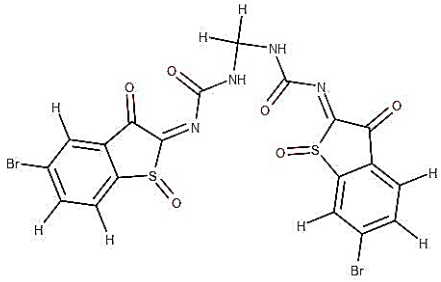
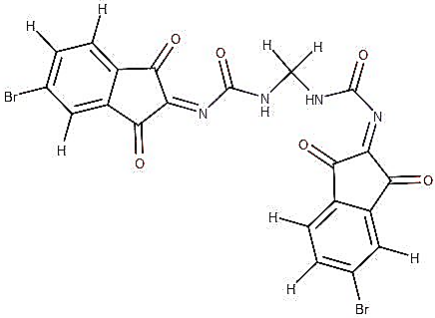
<p>24.</p> 	4.2	3.7	5.3
<p>25.</p> 	3.4	5.3	5.0
<p>26.</p> 	4.7	4.8	4.6
<p>27.</p> 	3.8	4.1	4.8
<p>28.</p> 	4.9	4.4	4.6

<p>29.</p> 	4.0	3.8	3.5
<p>30.</p> 	3.8	3.4	3.6
<p>31.</p> 	4.5	4.8	5.1
<p>32.</p> 	4.8	5.4	4.9
<p>33.</p> 	4.7	5.5	3.9

<p>34.</p> 	4.4	5.3	4.4
<p>35.</p> 	4.3	4.2	4.7
<p>36.</p> 	6.4	5.7	5.8
<p>37.</p> 	5.2	4.5	4.1
<p>38.</p> 	4.4	4.3	4.0
<p>39.</p> 	4.4	5.3	5.5

40.		5.8	5.2	5.0
41.		5.9	5.7	5.1
42.		6.1	5.5	4.8
43.		N.D	N.D	N.D
44.		N.D	N.D	N.D

<p>45.</p> 	N.D	N.D	N.D
<p>46.</p> 	N.D	N.D	N.D
<p>47.</p> 	5.8	5.2	5.0
<p>48.</p> 	5.9	4.9	4.8
<p>49.</p> 	5.3	5.0	4.8

50. 	5.6	4.6	4.8
51. <p>N.D= no determinado mediante las herramientas computacionales disponibles</p> 	5.7	5.7	5.0