

Determinación cualitativa de la actividad antimicrobiana de sustancias antibióticas, bactericidas y fungicidas en antibiograma.

Camacho S. Ana.¹, Pérez M. Valeria,¹ León Rodríguez Daniel A.²

Resumen

Introducción: En la actualidad resulta común emplear diversas sustancias que inhiban el crecimiento de los microorganismos, ello se puede dar en superficies inertes o tejidos vivos, por lo cual existen sustancias químicas inorgánicas y orgánicas que llevan a cabo funciones microbicidas o microbiostáticas. **Metodología:** Bajo este contexto se procedió a evaluar la efectividad que tienen diferentes sustancias ante diversos microorganismos (bacterias y levaduras). Para ello se procedió a analizar la susceptibilidad de dichos microorganismos ante las diferentes sustancias, de dos maneras; una de estas consistió en emplear tres sustancias en dos concentraciones diferentes y la otra consistió en emplear ocho sustancias diferentes mediante sensidiscos. **Resultados:** Se obtuvieron resultados tanto esperados como sorprendidos, dependiendo de la eficiencia de la sustancia empleada, por lo cual se indagó los motivos por los cuales esto pudo haber sucedido. **Conclusión:** la eficiencia de las sustancias antimicrobianas depende de diversos factores.

Palabras clave: susceptibilidad, efectividad, microorganismos, sustancias antimicrobianas.

Abstract

At present it is common to use various substances that inhibit the growth of microorganisms, this can occur in inert surfaces or living tissues, so there are inorganic and organic chemicals that carry out microbicidal or microbiostatic functions. Under this context, the effectiveness of different substances against different microorganisms (bacteria and yeast) was evaluated. To do this, we proceeded to analyze the susceptibility of these microorganisms to the different substances, in two ways; One of these was to use three substances in two different concentrations and the other consisted of using eight different substances using sensidiscs. Both expected and surprising results were obtained, depending on the efficiency of the substance used, so the reasons why this could have happened were investigated, concluding that the efficiency of the antimicrobial substances depends on several factors.

Key words: susceptibility, effectiveness, microorganisms, antimicrobial substances.

1 Semillero de investigación MGB. Universidad Libre, Seccional Pereira

2 Docente del programa de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Libre Pereira

Introducción

Los microorganismos son caracterizados por tener un tamaño que comúnmente oscila entre los 3 y 10 micrómetros y por tanto manifiestan mayor sensibilidad a diversas sustancias que afectan su ciclo de vida (1); en ese sentido se han desarrollado los agentes antimicrobianos, definidos como sustancias naturales, sintéticas o semisintéticas con la capacidad de matar o inhibir el crecimiento de los diferentes microorganismos como las bacterias, hongos y algas (2).

Algunos ejemplos de antimicrobianos son los antibióticos, los cuales se han desarrollado para actuar contra las bacterias y son empleados en caso de infección. De los antibióticos se puede decir que están clasificados en diferentes grupos como los betalactámicos, los cuales a su vez contienen subgrupos, tales son: penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos, los cuales tienen la capacidad de actuar contra bacterias Gram-positivas; algunos se han continuado desarrollando para lograr actuar incluso contra algunas cepas Gram-negativas o bien no perder su capacidad terapéutica por la resistencia haya generado. También están las tetraciclinas, estas han tenido tres generaciones de desarrollo, tienen un efecto bacteriostático y actúan sobre la subunidad 30S del ribosoma, inhibiendo la síntesis de proteínas; motivo por el cual se pueden emplear en diversas infecciones bacterianas o protozoarias. Los aminoglucósidos, un grupo compuesto únicamente de cuatro antibióticos en el que se incluye la gentamicina, se caracterizan por inhibir la síntesis proteica al bloquear la elongación en diferentes grupos y especies bacterianas dado que se une a la subunidad 30S, específicamente en la posición 16S. Los antibióticos macrolidos tienen un efecto bacteriostático y bactericida sobre Gram-positivos dado que impiden la síntesis de nuevos pepti-

dos por la inhibición a la peptidiltransferasa del ribosoma, en algunos casos pueden afectar las células del huésped. También existen las quinolonas, antibióticos de los cuales por un lado se han desarrollado cuatro generaciones que inhiben la acción de las topoisomerasas, que al ser imprescindibles en la síntesis del DNA tienen un efecto bactericida, por otro lado están las fluoroquinolonas que inhiben a las DNA girasa, por lo cual también impiden la síntesis del DNA y tiene el mismo efecto que las otras quinolonas; ambos tipos pueden ser empleados para tratar infecciones causadas por diversas cepas bacterianas Gram-positivas o Gram-negativas. Otro modo de acción es afectar la pared bacteriana, en ese sentido los glucopeptidos inhiben su síntesis al impedir la formación del complejo D-alanina, por su naturaleza son empleados principalmente contra cepas Gram-positivas. Finalmente están las sulfoamidas que tienen un efecto bacteriostático generado por el antagonismo competitivo que generan al secuestrar el ácido paraaminobenzoico, imprescindible para la síntesis del ácido fólico por lo cual se puede emplear contra bacterias y algunos protozoos (3-12).

Los biocidas definidos como sustancias químicas tóxicas para los microorganismos; son dosificados a un sistema con el objetivo de reducir rápida y eficazmente la población microbiana, se subclasifican en agentes oxidantes como el hipoclorito de sodio y no oxidantes como las aminas; generalmente se emplean como desinfectantes y conservantes (13-14).

Según lo anterior se tiene que los agentes antimicrobianos actúan de maneras diferentes lo cual lleva a su clasificación en según su tipo de acción en microbicida, refiriéndose a aquellos con la capacidad de eliminar los microorganismos y microbistático a los que inhiben o hacen más lento

el crecimiento microbiano; Su acción depende de la concentración de dicha sustancia y del tiempo durante el que actúa (15).

Partiendo de los conceptos anteriores se tiene que las sustancias antimicrobianas según su modo de acción pueden actuar como agentes esterilizantes con capacidad de destruir microorganismos o cualquier tipo de sustancia sobre el material de interés, agentes desinfectantes con un fin microbicida o microbiostático aplicado a superficies inanimadas o bien agentes antisépticos aplicado a superficies vivas (16-18).

Debido a su fácil acceso dada su disponibilidad generalizada, a su costo generalmente bajo y a su relativa seguridad, los antimicrobianos se encuentran entre los métodos más usados (19); sin embargo, sus propiedades y por tanto acción se puede ver afectada por la concentración en que se emplee el agente y el tiempo en que se deje actuar, pH, temperatura, el microorganismo contra el cual se está empleando y/o la presencia de otras sustancias. (20)

Por otra parte, los estudios llevados a cabo hacia la sensibilidad que componen los microorganismos con respecto a los antimicrobianos se desarrollan mediante las pruebas de sensibilidad o antibiograma, cuyo principal objetivo es evaluar la respuesta de un microorganismo a uno o varios antimicrobianos, traduciendo, en una primera aproximación, su resultado como factor predictivo de la eficacia clínica (21). Teniendo en cuenta que no se puede predecir la susceptibilidad de las bacterias, hongos, virus y demás microorganismos ante un agente antimicrobiano, se forja la necesidad de estudiar la sensibilidad individual de cada patógeno a este tipo de medicamentos o barreras (22).

Referente a lo anterior, se puede afirmar que se debe elegir entonces el agente apropiado (el más activo contra el patógeno, el menos tóxico para el huésped, con las características farmacológicas apropiadas y el más económico (23).

El antibiograma generalmente define la actividad in vitro de un antibiótico frente a un microorganismo específico, reflejando así su capacidad para inhibir el crecimiento de una bacteria o población bacteriana (24).

Los ensayos de sensibilidad a microorganismos, han de estar convenientemente normalizados y sujetos a procesos de control que aseguren su reproducibilidad (24-25).

Para hacer un antibiograma exitoso, pueden existir diferentes métodos y derivaciones, entre ellos los comunes, tales son el método de disco en placa, el cual fue el de interés y consiste básicamente en emplear un seriado de discos de papel secante impregnado con diferentes antibióticos un medio de cultivo previamente preparado e inoculado con la cepa de interés, de igual manera existen los métodos de suspensión directa de colonias, Epsilon test y método de dilución en agar (24, 26-28)

Para llevar a cabo un análisis empleando antibiograma es común emplear agar nutritivo (AN) o Mueller-Hinton (MH) dadas sus características.

AN: Se caracteriza por permitir el crecimiento de microorganismos poco exigentes en cuanto a su nutrición; lo cual hace que su uso sea común, principalmente para realizar el aislamiento y recuento de colonias dado el crecimiento satisfactorio que normalmente presentan las cepas inoculadas en este. En microbiología es

común su uso por sus características polivalentes que permiten realizar variados análisis. (30)

MH: Es comúnmente utilizado en microbiología para determinar la sensibilidad de las cepas, generalmente aisladas en ambientes clínicos, de microorganismos aerobios a antimicrobianos. Ello dado su buena productividad y método Bauer-Kirby en que a través de un gel se difunden las sustancias antimicrobianas, impregnadas en papeles (sensidiscos). La técnica desarrollada en la década de 1960 por Bauer, Kirby y otros se ha ido perfeccionando, lo que permite que la evaluación e interpretación de resultados se realice con base en el diámetro de las zonas de inhibición (ZOI), generadas por acción de las sustancias antimicrobianas, comparándolas con las concentraciones mínimas de inhibición (CMI) y determinando si el organismo es sensible o susceptible (S), intermedio (I) o resistente (R) y la efectividad de la sustancia para inhibir el crecimiento microbiano. (31-32) Con fundamento en la información anterior se llevó a cabo la práctica que permitiera evaluar la susceptibilidad antimicrobiana (AST, por sus siglas en inglés) de *Escherichia coli*, *Lactococcus lactis*, *Staphylococcus aureus* y *Saccharomyces cerevisiae*, caracterizando de manera cualitativa la actividad antimicrobiana de diversas sustancias, tales son: solución salina (cloruro de sodio), hipoclorito de sodio, butanol, amoxicilina, café, vinagre balsámico, norfloxacin y gentamicina.

Metodología

Antimicrobianos: Para comenzar se procedió a preparar el material necesario, para ello por un lado se organizó AN según las indicaciones de la casa comercial; por otro lado, se realizaron las diluciones de las sustancias a emplear (butanol, hipoclorito de sodio y solución salina) puesto que

se requerirían en concentraciones de 1:1 y 1:10.

Teniendo el material listo, se procedió a realizar la siembra por agotamiento (figura 1) de cada uno de los inóculos en 6 cajas de Petri que contenían el AN y que superaron la prueba de esterilidad; acto seguido se depositaron 2 mL de las sustancias antimicrobianas en el estado en que se comercializan en uno de los medios ya inoculados; luego se realizó el mismo procedimiento empleando las sustancias diluidas. Una vez los medios fueron inoculados y contenían cada uno 2 mL de la sustancia antimicrobiana, fueron llevados a incubadora durante 3 días a una temperatura de 37°C. Finalmente se realizó el respectivo análisis que constaba en evaluar cada una de las líneas de los cuadrantes (figura 1) teniendo en cuenta que cada una tenía un valor equivalente a 0,2 si se registraba buen crecimiento microbiano; teniendo así un valor máximo de 1 por cuadrante y una pequeña línea en el medio que se realizaba en el medio después de sembrar todos los cuadrantes tendría valor de 1 si registraba crecimiento, completando así el valor máximo por caja de 5.

Antibiograma: En primera instancia se procedió a preparar los medios correspondientes, MH y AN, según las indicaciones de la casa comercial. Se realizó control de esterilidad. También se activaron las cepas que iban a ser empleadas; se cortaron los sensidiscos a partir de papel filtro, los cuales fueron esterilizados en autoclave. De igual manera se prepararon las disoluciones necesarias, tal fue el caso del hipoclorito de sodio que se llevó a una concentración del 5% y la amoxicilina que fue disuelta en 10 ml de agua. Teniendo los sensidiscos estériles se procedió a impregnarlos con las sustancias respectivas (figura 2) de manera tal que los primeros 6 correspondieron a agua destilada,

amoxicilina, café, vinagre, solución salina e hipoclorito de sodio dado que el 7 y 8 ya contenían antibióticos desde su fabricación (gentamicina y norfloxacin), se procedió a realizar la siembra masiva de los inóculos en cada uno de los medios para depositarlos en su superficie (figura 9). Para finalizar fueron las cajas fueron llevadas a incubación a 37°C durante 3 días. El análisis se realizó evaluando la

zona de inhibición generada por las diferentes sustancias.

Es de destacar que las diluciones, siembras y procedimientos de adición de las sustancias antimicrobianas a los medios se realizaron cerca a mechero y al concluir con las prácticas se procedió a descartar el material, inactivando las cepas en autoclave.

Tabla 1. Evaluación de la inhibición de diferentes microorganismos respecto a sustancias antimicrobianas.

Presencia : SI				
Ausencia: -				
Bacteria	Sustancias antimicrobianas		Crecimiento microbiano	Contaminación por hongos no caracterizados
<i>Staphylococcus aureus</i>	Hipoclorito	1%	-	-
		10%	-	SI
	Cloruro de sodio	1%	SI	SI
		10%	-	SI
	Butanol	1%	-	SI
		10%	-	SI
<i>Lactococcus lactis</i>	Hipoclorito	1%	-	-
		10%	-	SI
	Cloruro de sodio	1%	-	SI
		10%	-	SI
	Butanol	1%	SI	SI
		10%	SI	SI
<i>Escherichia coli</i>	Hipoclorito	1%	-	-
		10%	-	SI
	Cloruro de sodio	1%	-	SI
		10%	-	SI
	Butanol	1%	-	SI
		10%	SI	SI
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Hipoclorito	1%	-	-
		10%	-	SI
	Cloruro de sodio	1%	-	SI
		10%	-	SI
	Butanol	1%	SI	-
		10%	-	SI

Resultados

Según las figuras 14-18 se puede evidenciar la susceptibilidad de los diferentes inóculos a diversas sustancias antimicrobianas, como se muestra en las tablas 3, 4, 5 y 6, donde:

- -- → Inhibición nula
- - → Poca inhibición
- + → Inhibición
- ++ → Alta inhibición

Discusión

A pesar de que en las imágenes (figuras 10-13) no sea muy claro el crecimiento microbiano que pudo haber en cada una de las cajas, al realizar el análisis de los resultados en laboratorio (tabla 1), se evidenció que en muchos casos se desarrolló crecimiento microbiano a pesar de haber empleado sustancias en diferentes concentraciones que hipotéticamente lo inhibirían.

Tabla 2. Susceptibilidad de las diferentes cepas ante los diferentes antimicrobianos.

Presencia : SI				
Ausencia: -				
Bacteria	Sustancias antimicrobianas		Crecimiento microbiano	Contaminación por hongos no caracterizados
<i>Staphylococcus aureus</i>	Hipoclorito	1%	-	-
		10%	-	SI
	Cloruro de sodio	1%	SI	SI
		10%	-	SI
	Butanol	1%	-	SI
		10%	-	SI
<i>Lactococcus lactis</i>	Hipoclorito	1%	-	-
		10%	-	SI
	Cloruro de sodio	1%	-	SI
		10%	-	SI
	Butanol	1%	SI	SI
		10%	SI	SI
<i>Escherichia coli</i>	Hipoclorito	1%	-	-
		10%	-	SI
	Cloruro de sodio	1%	-	SI
		10%	-	SI
	Butanol	1%	-	SI
		10%	SI	SI
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Hipoclorito	1%	-	-
		10%	-	SI
	Cloruro de sodio	1%	-	SI
		10%	-	SI
	Butanol	1%	SI	-
		10%	-	SI

A pesar de lo anterior se logró evidenciar la efectividad del hipoclorito de sodio en su presentación comercial para inhibir el crecimiento microbiano o bien generar la lisis de las células bacterianas dado que no hubo crecimiento de los inóculos ni de otros organismos contaminantes en ninguno de los medios tratados con esta sustancia. También se constató que en los medios tratados con hipoclorito diluido hubo crecimiento microbiano de hongos no caracterizados y en ninguno se presentó crecimiento de los inóculos lo cual permite inferir que si bien pueden tener un efecto bactericida y no poseen un efecto bacteriostático que inhibe el crecimiento microbiano.

Respecto a los medios tratados con solución salina, se evidenció la capacidad que tiene *S. aureus* de crecer en entornos salinos (con una concentración de NaCl de hasta 7.5%) (33) dado que al realizar el análisis eco métrico se obtuvo un valor de 3 pero por complicaciones que hubo como la contaminación no se pudo realizar un análisis completo, por tanto, se observó que tuvo un rendimiento bajo en el tratamiento con la solución salina comercial, es decir de 1%. De igual manera se observó la efectividad bactericida donde los antimicrobianos polares se pegan a las proteínas membranales de los microorganismos la cual puede verse afectada al bloquear mecanismos de acción, afectando la síntesis de proteínas o en su metabolismo como tal (34-35) que puede tener esta sustancia al ser empleada como antimicrobiano dado que la solución salina de concentración comercial en general restringió el crecimiento de los microorganismos inoculados, sin embargo, no tiene un efecto bacteriostático que restrinja el crecimiento microbiano dado que todos los medios tratados con esta sustancia presentaron contaminación por demás organismos no caracterizados.

Finalmente, respecto al butanol se puede decir que a pesar de ser un antimicrobiano, dado que restringió el crecimiento de *S. aureus*, debido que al ser un alcohol altera la fluidez de las membranas, las deshidrata e interactúan directamente con las proteínas presentes en ellas, razones por las cuales la estructura es degradada y es inducida la lisis de la célula bacteriana (36). Sin embargo no restringió el crecimiento de *Lactococcus lactis* ni el de *E. coli* en la concentración 1:10 ni el de *S. cerevisiae* en la concentración comercial (1:1); lo cual lleva a deducir que pudo haber factores que afectaran su efectividad como la volatilidad que esta sustancia tiene puesto que a 36°C tiene la capacidad de alcanzar la temperatura mínima requerida para comenzar a evaporarse; teniendo en cuenta que todo se realizó cerca a mechero y la temperatura alrededor de este es superior a 36°C (37-38) se puede afirmar que ello afectó su concentración y características químicas y por tanto antimicrobianas.

Según la información suministrada en la tabla 2 y observada en las imágenes correspondientes (figuras 14-17), se evidencia que el realizar la siembra en MH o AN genera una variación en los resultados, además se evidencia que la eficiencia de cada una de las sustancias varía respecto al microorganismo. En ese sentido, resulta curioso haber observado inhibición en AN por el sensidisco de control negativo, lo que conlleva a inferir que el sensidisco de gentamicina, ubicado al lado de este tuvo una inhibición tan alta y efectiva contra *Lactococcus lactis* y *E. coli* que logró restringir en lugares vecinos, siendo evidente en el espacio del control negativo.

Respecto a la amoxicilina, dadas las ZOI, se pudo comprobar que resulta más efectiva contra bacterias Gram-negativas dada la inhibición que presentó contra *E. coli* además se observó que en algunas

ocasiones puede resultar efectiva contra cepas Gram-positivas y en otras no; ello debido a la susceptibilidad que presentó *S. aureus* y la resistencia de *L. lactis* a su acción. De igual manera se demostró que puede restringir el crecimiento de levaduras. Respecto al café se evidenció que en ningún caso resultó ser una sustancia inhibidora del crecimiento microbiano; esto se pudo deber a la poca cantidad que se empleó y que la concentración de las sustancias antimicrobianas que este contiene depende de la cantidad de café que se emplee.

De la actividad antimicrobiana que tuvo el vinagre balsámico se puede decir que resulta inefectivo dado que sólo restringió el crecimiento microbiano de *S. cerevisiae* en AN y *E. coli* en MH; ello, al igual que en el caso del café, se pudo deber a la poca cantidad de vinagre empleada y por tanto poca concentración de las moléculas antimicrobianas que este pueda contener (5).

Se evidenció que la solución salina puede disminuir su efectividad al inhibir el crecimiento microbiano al ser empleada a través de los sensidiscos en lugar de hacerlo directamente, dado que se observó una efectividad nula contra los diferentes inóculos puesto que no se observó alguna ZOI.

En cuanto a la solución de hipoclorito; se evidenció una efectividad menor que la vista anteriormente cuando se empleó de manera directa, aunque sí se evidenció actividad antimicrobiana puesto que se observaron ZOI.

Finalmente se tienen los sensidiscos impregnados con antibióticos. En este sentido se tiene que tanto la gentamicina como la norfloxacin resultaron muy efectivas contra *E. coli*, lo que confirma su actividad contra las cepas Gram-negativas

(38). Sin embargo no se observó la misma efectividad contra *S. aureus* por parte de la norfloxacin cuando debió haberlo sido puesto que su método de acción actúa indiferentemente entre cepas Gram-positiva y Gram-negativas ya que su blanco es restringir la acción de la DNA girasa(39), dado que la ZOI no era clara a pesar de que se observaba cierta inhibición, el que no haya sido clara y definida la ZOI se puede deber a que el medio fue dejado en incubación por 3 días y el efecto antibiótico pudo haber vencido. A pesar se observó la efectividad de ambos antibióticos contra las diferentes cepas empleadas puesto que las ZOI de ambos era considerablemente grande.

Conclusiones

Se logró determinar de manera cualitativa la actividad antimicrobiana de diversas sustancias, evidenciando que los antibióticos resultan más efectivos que los demás antimicrobianos empleados, demostrando la susceptibilidad que presenten las cepas al efecto antimicrobiano que pueden tener diferentes sustancias además de que existen diversos factores con capacidad de afectar la efectividad de los agentes antimicrobianos como la concentración en que se emplee y sus propiedades fisicoquímicas.

Referencias Bibliograficas

1. Madigan, M. T., Martinko, J. M., Parker, J., & Prentice, H. (2011). Biología de los microorganismos. <https://doi.org/10.1787/9789264065017-1-es>
2. Burnett-Boothroyd, S. C., & McCarthy, B. J. (2011). Antimicrobial treatments of textiles for hygiene and infection control applications: An industrial perspective. In *Textiles for Hygiene and Infection Control*. <https://doi.org/10.1016/B978-1-84569-636-8.50013-X>

3. Weblet Importer. <http://www.fao.org/3/y5468s/y5468s05.htm>. Accessed April 10, 2019.
4. He J, Luo X, Jin D, Wang Y, Zhang T. Identification, Recombinant Expression, and Characterization of LGH2, a Novel Antimicrobial Peptide of *Lactobacillus casei* HZ1. *Molecules*. 2018;23(9):2246. doi:10.3390/molecules23092246
5. Suárez C, Gudiol F. Antibióticos betalactámicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27(2):116-129. doi:10.1016/j.eimc.2008.12.001
6. Chávez Sánchez FR, Rojas-Lemus M, Fortoul van der Goes TI, et al. *Revista de La Facultad de Medicina de La Unam*. Vol 60. AMER-BAC; 2017. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0026-17422017000500036. Accessed April 10, 2019.
7. Cobos-Trigueros N, Ateka O, Pitart C, Vila J. Macrólidos y cetólidos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009. doi:10.1016/j.eimc.2009.06.002
8. Cánovas Fernández A, de la Prieta López R, Barreiro García G, Alonso Alonso JJ, Aguirre Errasti C. Antibióticos glucopéptidos. *Med - Programa Form Médica Contin Acreditado*. 2013. doi:10.1016/s0304-5412(02)70656-2
9. Krause KM, Serio AW, Kane TR, Connolly LE. Aminoglycosides: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016;6(6). doi:10.1101/cshperspect.a027029
10. Antibacterianos sulfonamidas y trimetoprim | Fichero farmacológico | AccessMedicina | McGraw-Hill Medical. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1510§ionid=98009253>. Accessed April 10, 2019.
11. Vicente D, Pérez-Trallero E. Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28(2):122-130. doi:10.1016/j.eimc.2009.10.002
12. Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA. Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(11):4943-4960. doi:10.1128/AAC.00296-11
13. biocidas. <https://www.lenntech.es/biocidas.htm>. Accessed April 9, 2019.
14. Ullah H, Ali S. Classification of Anti-Bacterial Agents and Their Functions. In: *Antibacterial Agents*. InTech; 2017. doi:10.5772/intechopen.68695
15. Lilliam D, Jackson C, Andrés L, Reyes M, Lilliam M, Cordiés H. Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. 1998;8(1):13-27.
16. *Methods of Sterilization*. <http://apps.who.int/phint/pdf/b/7.5.9.5.8-Methods-of-sterilization.pdf>. Accessed April 9, 2019.
17. *Fiche Technique 1: Principes de La Désinfection*. http://www.sohf.ch/Themes/Sterilisation/IVSS_5189_8_F.pdf. Accessed April 9, 2019.
18. González LL, Isabel Gutiérrez Pérez M, Eulalia Lucio-Villegas Menéndez M, Lluch NA, Luisa Morató Agustí M, Cachafeiro SP. Introducción a los antisépticos. *Atención Primaria*. 2014;46:1-9. doi:10.1016/S0212-6567(14)70055-1
19. OMS | Uso de los antimicrobianos. *WHO*. 2016. <https://www.who.int/drugresistance/use/es/>. Accessed April 9, 2019.
20. Agentes químicos. <https://www.ugr.es/~eianez/Microbiología/>
21. 14agquimicos.htm#_Toc61792027. Accessed April 9, 2019.
22. Lectura e interpretación del antibiograma: reto en la actualidad.
23. Cantón R. Lectura interpretada del antibiograma: una necesidad clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin*.

- 2010;28(6):375-385. doi:10.1016/j.eimc.2010.01.001
24. Pruebas de sensibilidad o antibiogramas - Enfermedades infecciosas - Manual MSD versión para profesionales. <https://www.msdmanuals.com/es-co/professional/enfermedades-infecciosas/diagnostico-de-laboratorio-de-las-enfermedades-infecciosas/pruebas-de-sensibilidad-o-antibiogramas>. Accessed April 10, 2019.
 25. Ramon-Pardo P, Sati H, Galas M. "One health" approach in the actions to address antimicrobial resistance from a Latin American standpoint. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2018;35(1):103–9.
 26. Laboratorio no.4 antibiograma. <https://es.slideshare.net/nataliaizurieta/laboratorio-no4-antibiograma-7723708>. Accessed April 10, 2019.
 27. Antibiograma | Lab Tests Online-ES. <https://labtestsonline.es/tests/antibiograma>. Accessed April 10, 2019.
 28. BSAC Working Party. BSAC Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing.
 29. Cervantes-García E, García-González R, María Salazar-Schettino P. *Características Generales Del Staphylococcus Aureus*. Vol 61.; 2014. www.medigraphic.com/patologiaclinica. Accessed April 10, 2019.
 30. Version 9.1 March 2010. www.bsac.org.uk
 31. Vaughan J, Benson R, Vaughan K. Assessing the effectiveness of antimicrobial wound dressings in vitro. *Adv Wound Repair Ther*. January 2011:227-246. doi:10.1533/9780857093301.2.227
 32. MODE D'EMPLOI-MILIEUX EN BOITES DE PETRI PRETS A L'EMPLOI BD Mueller Hinton II Agar BD Mueller Hinton II Agar 150 Mm BD Mueller Hinton II Agar, Square APPLICACION.; 2017. <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8830>. Accessed April 10, 2019.
 33. Lockyer N. *Nature*. [Macmillan Journals Ltd., etc.]
 34. MÉDICA Autor P, Camacho Assef VJ, Auxiliar P. *LOS ANTIMICROBIANOS EN LA*. <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/urgencia/antibioticos.pdf>. Accessed April 10, 2019.
 35. Calvo J, Martínez-Martínez L. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27(1):44-52. doi:10.1016/j.eimc.2008.11.001
 36. Contek. HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD ALCOHOL BUTILICO 1. Identificación de La Sustancia/Preparado y de La Sociedad o Empresa. www.ctr.com.mx. Accessed April 10, 2019.
 37. Información técnica del Butanol (n-butanol, alcohol butílico). <https://www.cosmos.com.mx/wiki/butanol-n-butanol-alcohol-butilico-cxt7.html>. Accessed April 10, 2019.
 38. Rubén J, Mairena E. *Efecto Del Etanol Sobre Las Membranas Biológicas*. <http://cidbimena.desastres.hn/RMH/pdf/1993/pdf/Vol61-1-1993-4.pdf>. Accessed April 10, 2019.
 39. WHO Model Prescribing Information: Drugs used in Bacterial Infections: Drugs (for details of contraindications, etc., see individual drug entries): Gentamicin. <http://apps.who.int/medicinedocs/fr/d/Js5406e/16.19.html>. Accessed April 9, 2019.
 40. Stratton C. Fluoroquinolone antibiotics: properties of the class and individual agents. *Clin Ther*. 14(3):348-75; discussion 347. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1638577>. Accessed April 9, 2019.

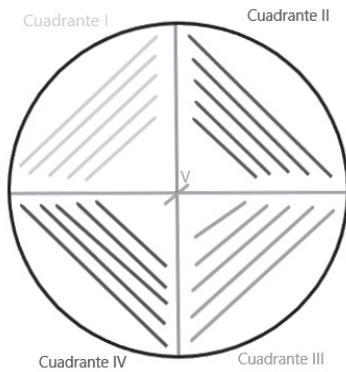


Figura 1. Representación esquemática del método de siembra empleado, con el fin de evaluar el posible crecimiento microbiano mediante análisis ecométrico. Imagen propia.

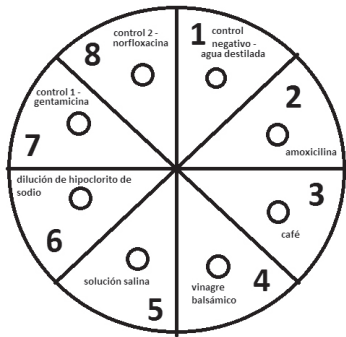


Figura 2. Representación esquemática del antibiograma realizado, con los respectivos sensibilizadores y las sustancias empleadas. Imagen propia.

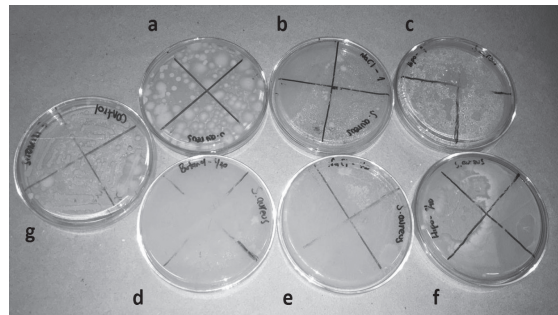


Figura 3. Medio inoculado con la bacteria *Staphylococcus aureus*, a: dilución de butanol (C₄H₁₀O) al 1% v/v; b: dilución de Cloruro de sodio (NaCl) al 1% v/v; c: dilución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% v/v; d: dilución de butanol (C₄H₁₀O) al 10% v/v; e: dilución de Cloruro de sodio (NaCl) al 10% v/v; f: dilución de hipoclorito de sodio (NaCl) al 10%; g: control negativo. Imagen propia.

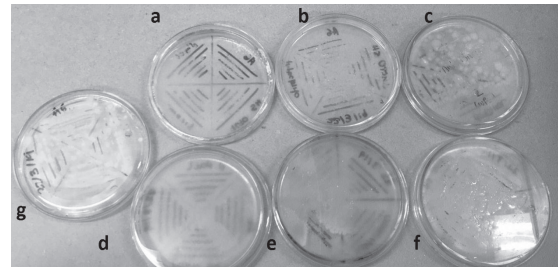


Figura 4. Medio inoculado con la bacteria *Lactococcus* spp, a: dilución de butanol (C₄H₁₀O) al 1% v/v; b: dilución de Cloruro de sodio (NaCl) al 1% v/v; c: dilución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% v/v; d: dilución de butanol (C₄H₁₀O) al 10% v/v; e: dilución de Cloruro de sodio (NaCl) al 10% v/v; f: dilución de hipoclorito de sodio (NaCl) al 10%; g: control negativo. Imagen propia.

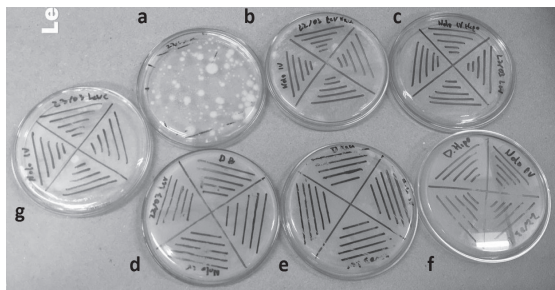


Figura 5. Medio inoculado con la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, a: dilución de butanol (C₄H₁₀O) al 1% v/v; b: dilución de Cloruro de sodio (NaCl) al 1% v/v; C₄H₁₀O c: dilución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% v/v; d: dilución de butanol (C₄H₁₀O) al 10% v/v; e: dilución de Cloruro de sodio (NaCl) al 10% v/v; f: dilución de hipoclorito de sodio (NaCl) al 10%; g: control negativo. Imagen propia.

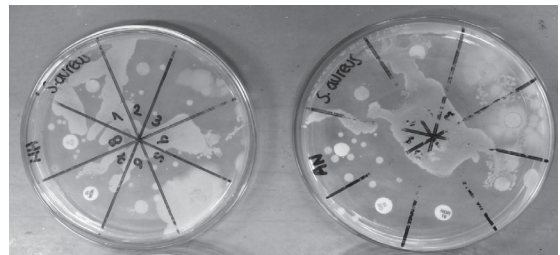


Figura 7. Medios MH (a la izquierda) y AN (a la derecha) inoculados con S.

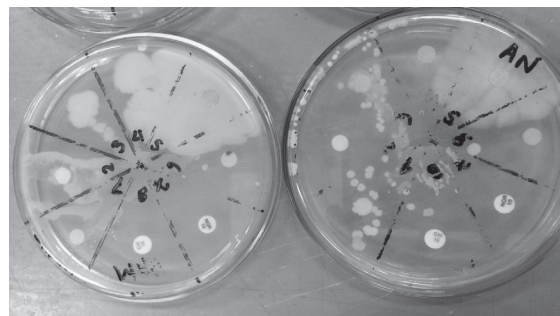


Figura 8. Medios MH (a la izquierda) y AN (a la derecha) inoculados con *S. cerevisiae*.

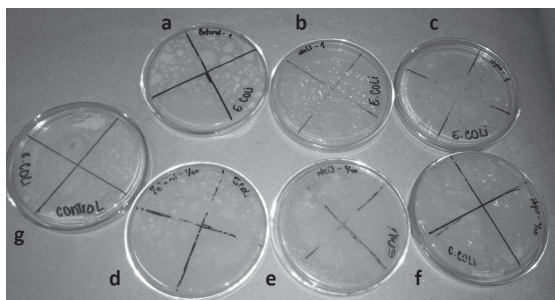


Figura 6. Medio inoculado con la bacteria *Escherichia coli*, a: dilución de butanol (C₄H₁₀O) al 1% v/v; b: dilución de Cloruro de sodio (NaCl) al 1% v/v; C₄H₁₀O c: dilución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% v/v; d: dilución de butanol (C₄H₁₀O) al 10% v/v; e: dilución de Cloruro de sodio (NaCl) al 10% v/v; f: dilución de hipoclorito de sodio (NaCl) al 10%; g: control negativo. Imagen propia.

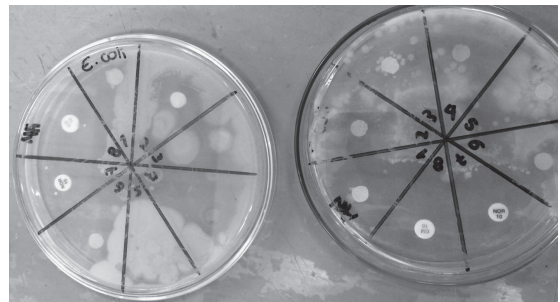
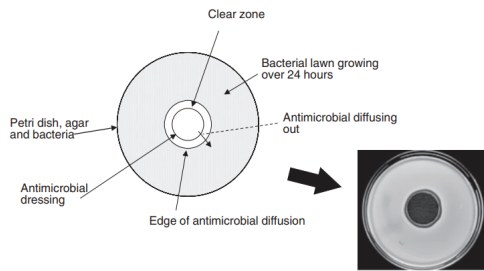


Figura 9. Inóculo de *Lactobacillus spp* en medios MH (a la izquierda) y AN (a la derecha)

236 Advanced wound repair therapies



10.3 A pictorial view of zone of inhibition development.

Figura 10. Inóculo de *E. coli* en medios MH (a la izquierda) y AN (a la derecha)