



ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL AIRE Y LAS
SUPERFICIES DE LAS ÁREAS DE QUIRÓFANOS DEL
HOSPITAL DEL INSTITUTO ECUATORIANO DE SEGURIDAD
SOCIAL DE RIOBAMBA”.**

Trabajo de titulación presentado para optar por el grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: GABRIELA MARINA PÉREZ MONTALVO

TUTOR: PhD. FELIX ANDUEZA LEAL

Riobamba- Ecuador

2016

©2016, **GABRIELA MARINA PÉREZ MONTALVO** Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el derecho de autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de investigación: “EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL AIRE Y LAS SUPERFICIES DE LAS ÁREAS DE QUIRÓFANOS DEL HOSPITAL DEL INSTITUTO ECUATORIANO DE SEGURIDAD SOCIAL DE RIOBAMBA” de responsabilidad de la señorita egresada Gabriela Marina Pérez Montalvo, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dr. Félix Andueza L. PHD DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	_____	_____
Dra. Sandra Noemí Escobar MIEMBRO DEL TRIBUNAL	_____	_____
Dr. Gerardo Medina. PHD DELEGADO DECANO	_____	_____
NOTA TRABAJO ESCRITO	_____	
DOCUMENTALISTA SISBIB ESPOCH	_____	_____

Yo, Gabriela Marina Pérez Montalvo declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 04 de Abril del 2016

GABRIELA MARINA PÉREZ MONTALVO

060324278-5

DEDICATORIA

A mi Virgen Auxiliadora por darme la fortaleza necesaria para cumplir uno de mis objetivos.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Escuela de Bioquímica y Farmacia por ser el lugar en el cual me formé personal y académicamente para culminar con este objetivo y llegar a ser un profesional de bien.

De manera muy especial a mi tutor: y colaboradores de trabajo de titulación al Dr. Félix Andueza, Dra. Sandra Escobar, por su ayuda, paciencia y aportes brindados para el desarrollo del presente trabajo.

A las autoridades del Hospital por su colaboración y predisposición de ayuda para poder llevar a cabo la presente investigación.

En general a todos quienes de una u otra manera me brindaron su apoyo durante mi formación académica.

INDICE DE ABREVIATURAS

<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
ACGIH	American Conference of Governmental Industrial Hygienists

TABLA DE CONTENIDOS

Páginas

INDICE DE TABLAS	x
INDICE DE CUADROS	xi
INDICE DE FIGURAS	xii
INDICE DE GRÁFICOS	xii
INDICE DE ANEXOS	xiv
RESUMEN.....	xv
SUMMARY	xvi
INTRODUCCIÓN	1

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO.....	7
1.1 Fundamentación Teórica.....	7
1.1.1 Calidad ambiental.....	7
1.1.2 Medio ambiente hospitalario.....	8
1.1.2.1 Medio ambiente animado.....	8
1.1.2.2 Medio ambiente inanimado.....	9
1.1.3 Clasificación de las áreas hospitalarias	9
1.1.3.1 Áreas críticas o de alto riesgo	9
1.1.3.2 Áreas semi críticas o de riesgo intermedio.....	9
1.1.3.3 Áreas no críticas o de riesgo bajo	10
1.1.4 Quirófano	10
1.1.4.1 Características del área de quirófano	10
1.1.4.2 Áreas del quirófano	11
1.1.4.3 Clasificación de los quirófanos	11
1.1.5 Análisis microbiológico	12
1.1.6 Estándares microbiológicos de calidad ambiental.....	12
1.1.6.1 Estándares para la contaminación fúngica	13
1.1.6.2 Estándares para la contaminación bacteriana.....	13
1.1.7 Métodos para el recuento de microorganismos en el aire	14
1.1.7.1 Método de sedimentación o técnica de la placa expuesta	14
1.1.7.2 Método por impacto	14
1.1.8 Métodos para el recuento de microorganismos en superficies.....	15

1.1.8.1	Método del hisopado o frotis.....	15
1.1.9	Cultivo bacteriano	15
1.1.9.1	Requerimientos nutricionales.....	15
1.1.9.2	Requerimientos ambientales	16
1.1.9.3	Fases de los medios de cultivo	16
1.1.9.4	Clasificación y funciones de los medios de cultivo	17
1.1.9.5	Preparación de medios artificiales o medios de cultivo	18
1.1.10	Identificación bacteriana	18
1.1.10.1	Métodos para la identificación bacteriana.....	19
1.2	Antecedentes de la Investigación	26
CAPÍTULO II		
2.	MARCO METODOLÓGICO	29
2.1	Área de estudio.....	29
2.2	Unidad/es de Análisis o muestra	29
2.2.1	Materiales.....	30
2.3	Recolección de datos.....	31
2.3.1	Técnicas de recolección de datos	31
2.3.3	Técnica de recogida de muestras por Métodos no volumétricos.....	32
2.3.4	Frecuencia y puntos de muestreo	33
2.3.5	Transporte y conservación de la muestra	34
2.3.6	Procesamiento de la muestra.....	34
2.3.7	Selección de medios de cultivo y condiciones de incubación.....	34
2.3.8	Utilización de las placas COMPACT DRY	35
2.3.9	Técnicas de Identificación.....	35
CAPÍTULO III.		
3.	MARCO DE RESULTADOS, ANALISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	40
	CONCLUSIONES	53
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

INDICE DE TABLAS

Págs.

Tabla 1-1: Condiciones de temperatura y tiempo de incubación para las placas Compact Dry 35

Tabla 1-3: Cantidad de bacterias aerobios mesófilos presente en las superficies en los quirófanos del Hospital de Riobamba 40

Tabla 2-3: Cuantificación de bacterias aerobios mesófilos en los quirófanos del Hospital de Riobamba (muestreo aire) 45

Tabla 3-3: Frecuencia de aislamiento de especies bacterianas en superficies y ambientes de las áreas quirúrgicas. 47

Tabla 4-3: Cuantificación de bacterias aerobias mesófilas en las superficies de distintas áreas quirúrgicas..... 48

INDICE DE CUADROS

	Págs.
Cuadro 1-1: Clasificación de los Quirófanos	11
Cuadro 2-1: Clasificación del ambiente en función al recuento microbiológico	14
Cuadro 1-2: Población y muestras.....	30
Cuadro 2-2: Matriz de recolección de la información.....	32
Cuadro 3-2: Toma de muestras.....	32
Cuadro 4-2: Frecuencia y Puntos de Muestreo.....	33
Cuadro 5-2: Medios de Cultivo Incubación y Lectura	34
Cuadro 6-2: Esquema Tinción Gram.....	36
Cuadro 1-3: Características morfotintoriales, bioquímicas y lugar de procedencia de la microbiota bacteriana aislada.....	50

INDICE DE FIGURAS

	Págs.
Figura 1-1: Morfología celular bacteriana, reacciones de la tinción Gram	20
Figura 2-1: Morfología en la tinción Gram.....	21
Figura 3-1: Características morfológicas de las colonias.	22
Figura 1-2: Mapa de la provincia de Chimborazo	29
Figura 2-2: Hoja de resultados.....	39

INDICE DE GRÁFICOS

	Págs.
Gráfico 1-3: Comparación entre el Primer y Segundo muestreo en el Quirófano 1	41
Gráfico 2-3: Comparación entre el Primer y Segundo muestreo en el Quirófano 3	42
Gráfico 3-3: Comparación entre el Primer y Segundo muestreo en el Quirófano 4	43
Gráfico 4-3: Comparación entre el Primer y Segundo muestreo en el Quirófano 5	44
Gráfico 5-3: Comparación entre el Primer y Segundo muestreo en la Sala de Recuperación ...	45
Gráfico 6-3: Carga microbiana en el ambiente.	46
Gráfico 7-3: Identificación de microorganismos aislados	47
Gráfico 8-3: Comparación entre Quirófanos, cuenta total de UFC.....	49
Gráfico 9-3: Morfología de los microorganismos aislados.....	51

INDICE DE ANEXOS

ANEXO A: Muestreo Aire (mesa quirúrgica)

ANEXO B: Incubación de placas

ANEXO D: Crecimiento en placas Compact Dry

ANEXO E: Crecimiento en placas Compact Dry

ANEXO F: Prueba Oxidasa

ANEXO G: Coloración Gram

ANEXO H: Coloración Gram

ANEXO I: Coloración Gram

ANEXO J: Identificación Microgen

ANEXO K: Identificación Microgen

ANEXO L: Identificación Microgen

RESUMEN

Los establecimientos de salud son entornos en los que se congregan personas que en mayor o menor grado presentan problemas con su salud. En este contexto el ambiente hospitalario resulta un espacio en el cual se pueden contraer infecciones nosocomiales con el consiguiente deterioro del cuadro clínico preexistente. En el presente estudio se realizaron evaluaciones en ambientes hospitalarios de un Hospital público ubicado en la ciudad de Riobamba, Ecuador tomando en cuenta las áreas más vulnerables como son los quirófanos. Para la recolección de muestras de superficies se utilizó el Método del hisopado, mientras que para las muestras de aire se utilizó el Método de sedimentación o de placa abierta, para procesar las muestras se las incubó de 24 a 48 horas a 37 °C. Para la identificación de los microorganismos encontrados se utilizó pruebas de identificación microbiológicas primarias como oxidasa, catalasa y coloración Gram, conjuntamente se utilizaron kits de identificación microbiana Microgen™ GN ID A+B. En los 4 quirófanos evaluados se obtuvo un total de 0.68, 1.04, 0.23, 0.58 UFC/cm² para cada quirófano, obteniendo valores menores a los expuestos en la norma UNE EN ISO 14698, mientras que en la evaluación del aire, los quirófanos estarían en la categoría de ambientes muy limpios establecidos por la norma UNE-EN ISO 14644 -1: 2000 que indica que debe poseer < 10 UFC / cm³ de aire para pertenecer a dicha clasificación. Los microorganismos identificados con mayor frecuencia fueron: *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Citrobacter freundii*, *Burkholderia pseudomallei*.

PALABRAS CLAVE: <AMBIENTE HOSPITALARIO>, <QUIRÓFANOS>, <PATOLOGÍA [INFECCIONES NOSOCOMIALES]>, < MÉTODO DEL HISOPADO >, < MÉTODO DE SEDIMENTACIÓN >, < IDENTIFICACIÓN MICROBIANA >.

SUMMARY

Health facilities are environments where people greater or lesser degree have problems with their health congregate. In this context the environment hospital is a space in which they can get nosocomial infections with the consequent deterioration of existing clinical picture. In the present study evaluations in hospital environments of a public hospital at Riobamba city, Ecuador taking into account the most vulnerable areas such as surgery rooms were made the method swab was used, whereas for air samples sedimentation Method or open plate was used to process the samples were the incubated for 24 to 48 hours at 37 °C. for collecting surface samples for identifying microorganisms found microbiological identification tests as primary oxidase, catalase and Gram staining was used together microbial identification kits Microgen™ GN ID A+B In 4 surgery rooms evaluated 0.68,1.04,0.23,0.58 CFU/cm² was obtained for each operating room, getting less than the values reported in the UNE EN ISO 14698, while in the air evaluation, surgery rooms would be in the category of very clean environments established by the UNE-EN ISO 14644-1:2000 indicating that must have <10 CFU/cm³ of air to belong to this classification. The most frequently identified microorganisms were Escherichia coli, hafnia alvei, Citrobacter freundii, Burkholderia pseudomallei.

KEYWORDS: <HOSPITAL ENVIRONMENT>, <SURGERY ROOMS>, <PATHOLOGY [NOSOCOMIAL INFECTIONS]>, <SWAB METHOD>, <SEDIMENTATION METHOD>, <MICROBIAL IDENTIFICATION>.

INTRODUCCIÓN

Se han descrito infecciones hospitalarias desde hace mucho tiempo, de variada etiología que han ido variando dependiendo las características del huésped y el ambiente; y aun hoy es un tema de preocupación el papel que tiene el ambiente hospitalario en las infecciones causadas por microorganismos que en este existan. (Calderón, E., 1989. <<http://www.paho.org/arg/publicaciones>>)

En el aire del interior de cualquier ambiente no estéril existen microorganismos en su gran mayoría aportado por las personas que en ellos se encuentran. Aunque raramente se ha demostrado que exista una relación causa efecto entre la existencia de microorganismos en el medio ambiente de un hospital y el desarrollo de infecciones, el monitoreo ambiental periódico permite realizar modificaciones tempranas en cuanto a protocolos de limpieza etc., además de ello ayudan a evaluar variaciones leves en los niveles normales de presencia de microorganismos ambientales; aunque no necesariamente el exceder niveles requiere de acciones correctivas, se puede plantear una investigación de seguimiento que puede incluir cambios en los planes de muestreo. (Ezpeleta, C., 2012. <<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/pocedimientosmicrob/>>)

En la actualidad cada vez con más frecuencia se incluye dentro de las normativas de control de calidad un control microbiológico ambiental y de superficies, y se hace prácticamente obligatorio cuando se trata de actividades relacionadas con productos o servicios destinados a sanidad o alimentación. (Ezpeleta, C., 2012. <<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/pocedimentomicro/>>)

IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

En el Ecuador existen muy pocos estudios que se enfoquen en la calidad microbiológica de los ambientes intrahospitalarios, hoy en día los requerimientos de los sistemas de calidad especialmente en el área de salud obligan a las entidades tanto públicas como privadas a tener un mayor control en todos los aspectos que relacionan directamente la salud y el bienestar de las personas, es por ello que las políticas sanitarias de nuestro país establecen que todos los ciudadanos deben recibir una atención digna y de calidad. (De la Rosa, M., 2000, <<http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-control-microbiologico>>)

Actualmente se ha dado énfasis a los estudios microbiológicos ambientales a nivel mundial ya que la contaminación ambiental dentro de las áreas críticas en hospitales es frecuente porque no únicamente en este ambiente están presentes pacientes y personal sanitario si no que a más de ello hay fuentes externas de contaminación como las visitas de los pacientes, proveedores de insumos, los materiales almacenados que de una u otra forma aunque no se encuentren directamente en las

áreas más vulnerables a contaminarse, son fuentes de microorganismos. (De la Rosa, M., 2000, <<http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-control-microbiologico>>)

Se manifiestan continuamente por motivos de mala calidad ambiental infecciones de tipo nosocomial que son complicaciones de salud graves que pueden ser evitadas llevando a cabo un adecuado protocolo higiénico sanitario. (De la Rosa, M., 2000, <<http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-control-microbiologico>>)

Los microorganismos más comunes presentes en ambientes hospitalarios y responsables de este tipo de infecciones son : *Klebsiella pneumoniae* que es un bacilo aerobio causante de infecciones a nivel del tracto urinario, tejidos blandos y heridas, lo más grave que ocasiona en una sepsis que puede complicar la salud del paciente ; *Escherichia coli* causante de infecciones de tipo diarreico y dependiendo la cepa puede producir graves enfermedades; *Pseudomonas aeruginosa*: bacteria bacilo Gram negativo causante de infecciones en pacientes oncológicos y quemados, esta bacteria tiene una gran capacidad de adaptación y además de ello presenta resistencia a un número significativo de antibióticos; *Staphylococcus aureus*: es una de las bacterias más comunes y que infecta a un número alto de pacientes, agravando enfermedades existentes o provocando nuevas infecciones; *Aspergillus spp*: este hongo es un ejemplo perfecto de patógeno oportunista. Suele aparecer en los hospitales tras la realización de obras y puede provocar infinidad de cuadros como infecciones superficiales, sobre heridas o asociadas a cuerpos extraños como catéteres. (De la Rosa, M., 2000, <<http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-control-microbiologico>>)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó que en un estudio realizado en 14 países miembros de la organización, aproximadamente 1.4 millones de personas sufren infecciones contraídos dentro del hospital. (OMS., 2003. <http://www.who.int/whr/2003/en/whr03_es.pdf>)

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) publica que solo un 5% de los hospitales de América Latina y el Caribe, tienen comités con programas regulares de control microbiológico y que están en actividad permanente. (OMS., 2003. <http://www.who.int/whr/2003/en/whr03_es.pdf>)

Es por ello que al plantear estudios de investigación como este, estamos colaborando no únicamente con la institución en la cual vamos a desarrollar el proyecto si no estamos ofreciendo una guía oportuna para evitar problemas de salud graves y que de alguna manera aumentan los gastos en salud pública al estado.

JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACION

El Hospital de Riobamba es una entidad pública que presta servicios de salud diariamente a muchas personas, no solo con personal sanitario calificado si no también con instalaciones adecuadas que brindan seguridad y confianza a los usuarios.

Por lo que se considera necesario mejorar continuamente la calidad de los servicios ofrecidos; como estamos tratando materia de salud, es indispensable realizar estudios de calidad microbiológica ambiental específicamente en las áreas críticas o de mayor riesgo microbiológico del hospital, para garantizar la salud de los pacientes.

La evaluación microbiológica de los ambientes críticos en hospitales, como puede ser el área de quirófano nos ayuda a evaluar la calidad del aire, ya que muchos pacientes que han sido atendidos en estos lugares pueden adquirir infecciones de tipo nosocomial por haber sido contaminados por microorganismos patógenos presentes en el ambiente que pueden llegar a las heridas o simplemente por inhalación. (Cobos, J. 2008. <<http://www.conama9.conama.org/conama9/downloadJCobos.pdf>>)

El ambiente de un hospital generalmente es hábitat de muchos microorganismos y por ende constituye un alto riesgo para adquirir enfermedades tanto para los pacientes como para sus familiares y el personal de salud. (Cobos, J. 2008. <<http://www.conama9.conama.org/conama9/downloadJCobos.pdf>>)

En los últimos años se ha podido demostrar por medio de estudios e investigaciones que el aire intrahospitalario cumple un papel sumamente importante en la transmisión de microorganismos que pueden afectar a la salud, además se ha podido determinar que para que estos agentes causales de enfermedades sobrevivan, se reproduzcan y esparzan en el ambiente depende de muchas condiciones del medio como luz, aire, temperatura y disponibilidad de nutrientes o sustratos. (OMS., 2003. <http://www.who.int/whr/2003/en/whr03_es.pdf>)

Las políticas de salud de nuestro país establecen que todos los ciudadanos deben recibir una atención digna y de calidad, dentro de ello cabe decir que los hospitales juegan un papel muy importante ya que la mayoría de la población acude a ellos en primera instancia.

El presente estudio permite documentar y servir de guía a los organismos de salud pertinentes para que puedan realizar una vigilancia adecuada de la contaminación ambiental en las entidades de salud y exijan a las mismas dar cumplimiento con las normas establecidas para de esta forma evitar brotes de enfermedades que puedan poner en riesgo la vida de los pacientes.

Fundamentación Legal

El presente trabajo se fundamenta en la Constitución General del Estado, en la ley Orgánica de Salud Capítulo I y II, de la Investigación Científica en Salud y de la Autoridad Sanitaria Nacional, sus competencias y responsabilidades. (Ley Orgánica De La Salud., 2006. http://<www.cicad.oas.org/fortalecimiento_institucional//PDF/EC/leyorganica_de_salud.pdf>)

Ley Orgánica de Salud.

CAPITULO II: De la Autoridad Sanitaria Nacional, sus competencias y responsabilidades

14. Regular, vigilar y controlar la aplicación de las normas de bioseguridad, en coordinación con otros organismos competentes;

15. Regular, planificar, ejecutar, vigilar e informar a la población sobre actividades de salud concernientes a la calidad del agua, aire y suelo; y, promocionar espacios y 16 ambientes saludables, en coordinación con los organismos seccionales y otros competentes;

16. Regular y vigilar, en coordinación con otros organismos competentes, las normas de seguridad y condiciones ambientales en las que desarrollan sus actividades los trabajadores, para la prevención y control de las enfermedades ocupacionales y reducir al mínimo los riesgos y accidentes del trabajo; 17. Regular y vigilar las acciones destinadas a eliminar y controlar la proliferación de fauna nociva para la salud humana. (Ley Orgánica De La Salud., 2006. http://<www.cicad.oas.org/fortalecimiento_institucional//PDF/EC/leyorganica_de_salud.pdf>)

CAPITULO I: De la Investigación Científica en Salud

Art. 207.- La investigación científica en salud así como el uso y desarrollo de la biotecnología, se realizará orientada a las prioridades y necesidades nacionales, con sujeción a principios bioéticos, con enfoques pluricultural, de derechos y de género, incorporando las medicinas tradicionales y alternativas. (Ley Orgánica De La Salud., 2006. http://<www.cicad.oas.org/fortalecimiento_institucional//PDF/EC/leyorganica_de_salud.pdf>)

Art. 208.- La investigación científica tecnológica en salud será regulada y controlada por la autoridad sanitaria nacional, en coordinación con los organismos competentes, con sujeción a principios bioéticos y de derechos, previo consentimiento informado y por escrito, respetando la confidencialidad. (Ley Orgánica De La Salud., 2006. http://<www.cicad.oas.org/fortalecimiento_institucional//PDF/EC/leyorganica_de_salud.pdf>)

CAPITULO IV: De la capacitación sanitaria

Art. 205.- Créase la carrera sanitaria para los recursos humanos del Sistema Nacional de Salud, basada en el criterio de clasificación por niveles de formación y estructura ocupacional, con el propósito de establecer sus obligaciones y derechos, así como los incentivos que permitan garantizar la equidad, calidad en la atención y el servicio, la asignación adecuada y suficiente de recursos humanos en las distintas zonas del país. (Ley Orgánica De La Salud., 2006. http://www.cicad.oas.org/fortalecimiento_institucional/PDF/EC/leyorganica_de_salud.pdf)

La autoridad sanitaria nacional promoverá y desarrollará, dentro de la carrera sanitaria, un plan nacional de educación permanente con enfoque de género y pluricultural, para mejorar la productividad, calidad del desempeño laboral y promoción de sus recursos humanos.

Art. 206.- La autoridad sanitaria nacional establecerá planes de capacitación y evaluación permanente de los profesionales y recursos humanos en salud e implementará promociones e incentivos. (Ley Orgánica De La Salud., 2006. http://www.cicad.oas.org/fortalecimiento_institucional/PDF/EC/leyorganica_de_salud.pdf)

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la calidad microbiológica del aire y de las superficies de quirófanos del Hospital IESS de Riobamba.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Identificar los principales microorganismos presentes en los ambientes y superficies de quirófanos del Hospital de Riobamba.
- Cuantificar el número de microorganismos presente en los ambientes y superficies de quirófanos del Hospital de Riobamba.
- Determinar cuál es el área con mayor carga microbiana que pueda causar daños a la salud de los pacientes.

HIPÓTESIS

- La calidad microbiológica del aire y de las superficies de quirófanos del Hospital IESS de Riobamba es la adecuada de acuerdo a la normativa de Ecuador para estas áreas.

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Fundamentación Teórica

1.1.1 Calidad ambiental

Al ser el aire un vehículo transportador de microorganismos los procedimientos para disponer de un aire limpio son de suma importancia sobre todo en áreas críticas que se encuentren en la necesidad de mantener un ambiente libre de bacterias, con el objetivo de determinar la *calidad* de las diversas áreas hospitalarias, es necesario realizar un monitoreo ambiental y proveer a dichas áreas de las características climáticas adecuadas para evitar contaminaciones e infecciones nosocomiales. (Faarvent, 2013, <<http://www.faarvent.com.mx/portfolio/calidad-ambiental-en-hospitales-quirofanos-y-areas-criticas-2/>>)

Se puede definir a la calidad ambiental como una serie de actividades que permiten por medio de la evaluación de un área determinada y usando pruebas establecidas, poder obtener resultados que aseguren que un área específica este apta para poder usarse, según las normativas o requisitos nacionales vigentes para el área de salud. (Ezpeleta, C., 2012. <<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/pocedimientosmicro/>>)

Entre los factores que pueden tener injerencia en la calidad del aire en un ambiente controlado se pueden recalcar:

El nivel y efectividad en la renovación del aire, de manera que el aire exterior diluye la concentración de bioaerosoles. (Ortiz, G., 2007. <<http://pdfs.wke.es/8/5/6/1/pd0000018561.pdf>>)

La eficiencia en la filtración y desinfección del aire, el nivel de recirculación del aire, la densidad de ocupación de las salas, la temperatura y la humedad que influye directamente en la viabilidad de los microorganismos. (Ortiz, G., 2007. <<http://pdfs.wke.es/8/5/6/1/pd0000018561.pdf>>)

1.1.2 Medio ambiente hospitalario

La contaminación del aire en áreas hospitalarias es un problema latente, ya que la posibilidad de que los contaminantes sean transportados y depositados sobre superficies, materiales o personas que queremos proteger es alta.

Es por ello que se ha dispuesto de herramientas para evitar en cuanto sea posible la contaminación en áreas críticas, tales como aquellas que tiene como objetivo impedir la entrada de contaminantes en el lugar que queremos proteger y aquellas destinadas a eliminar los contaminantes generados por la misma actividad humana. (Sociedad Andaluza De Medicina Preventiva Y Salud Pública., 2014. <<http://www.sociedadandaluzapreventiva.com/wp-content/uploads/2014/09/Borrador-protocolo-bioseguridad-SAMPSP.pdf>>)

La actividad humana es una fuente potencial de contaminación ambiental, se considera que un individuo es capaz de liberar a la atmósfera 1000 y 10000 bacterias por minuto. (Sociedad Andaluza De Medicina Preventiva Y Salud Pública., 2014. <<http://www.sociedadandaluzapreventiva.com/wp-content/uploads/2014/09/Borrador-protocolo-bioseguridad-SAMPSP.pdf>>)

En el ambiente de un hospital encontramos muchos microorganismos como bacterias que están relacionados como agentes causales de las infecciones nosocomiales, que son aquellas adquiridas por una persona durante su estancia en las entidades de salud y que no se habían estado incubando antes de ingresar a las mismas, este tipo de infecciones son más difíciles de tratar ya que al ser provocadas por microorganismos que están expuestos a la acción de antibióticos son patógenos resistentes a distintos fármacos y de una virulencia alta. (Villatoro, M., 2009. <http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2845.pdf>)

El riesgo de adquirir una infección ligada al aire interior de los hospitales está relacionado con algunos factores, entre los que se puede mencionar la tasa de concentración de partículas infecciosas en el ambiente, un tiempo considerable de exposición a las mismas, y la predisposición del paciente. (Sociedad Andaluza De Medicina Preventiva Y Salud Pública., 2014. <<http://www.sociedadandaluzapreventiva.com/wp-content/uploads/2014/09/Borrador-protocolo-bioseguridad-SAMPSP.pdf>>)

1.1.2.1 Medio ambiente animado

Está constituido por los pacientes que se encuentran hospitalizados y sus visitas, además el personal de salud que en el hospital labora, constituyéndose como una fuente de transmisión importante de microorganismos, existen en estos casos procesos cruzados ya que tanto los

pacientes ingresados constituyen un riesgo para el resto de personas, el personal sanitario y las visitas también pueden ser fuente de infección para las personas hospitalizadas. (Villatoro, M., 2009. < http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2845.pdf>)

1.1.2.2 Medio ambiente inanimado

Constituido por superficies, equipos, salas de hospitalización, paredes, techos, y demás componentes internos del hospital mismos que guardan íntima relación con las infecciones nosocomiales ya que se constituyen como reservorios de bacterias proporcionando focos de contagio y vehículos de transmisión. (Villatoro, M., 2009. < http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2845.pdf>)

1.1.3 Clasificación de las áreas hospitalarias

1.1.3.1 Áreas críticas o de alto riesgo

Consideradas aquellas zonas en donde se realizan procedimientos invasivos y el riesgo de contacto con elementos biológicos es alto, además de ello los pacientes por su condición están expuestos a contraer infecciones. Entre estas áreas se encuentran: (Rodríguez, N., 2007. <http://repository.urosario.edu.co/bitstream/handle/10336/1309/Anexo%201.pdf?sequence=8>)

- Quirófanos
- Salas de endoscopias
- Unidades de cuidado intensivo
- Unidades de quemados,
- Unidades de trasplante
- Laboratorios
- Salas de sutura en urgencias

1.1.3.2 Áreas semi críticas o de riesgo intermedio

En estas áreas los pacientes pueden estar de manera transitoria, el riesgo de contaminación es moderado ya que se puede producir contacto con material biológico, dentro de estas áreas se incluyen: (Rodríguez, N., 2007. <http://repository.urosario.edu.co/bitstream/handle/10336/1309/Anexo%201.pdf?sequence=8>)

- Servicios de hospitalización

- Consultas externas
- Farmacia
- Esterilización
- Rehabilitación
- Cuartos de observación
- Lavanderías

1.1.3.3 Áreas no críticas o de riesgo bajo

El riesgo de contacto con material biológico es casi nulo, ya que en estas áreas las personas están de paso y no tienen contacto directo con los elementos hospitalarios, entre estas podemos mencionar:

(Rodríguez, N., 2007.

<http://repository.urosario.edu.co/bitstream/handle/10336/1309/Anexo%201.pdf?sequence=8>)

- Consultorios médicos
- Salas de espera
- Depósitos de medicamentos
- Ascensores
- Pasillos

1.1.4 Quirófano

El área de quirófano es una estructura independiente destinada para la realización de intervenciones quirúrgicas, es un espacio cerrado que debe cumplir con una serie de requisitos estructurales y ambientales.

(Cruzeta, G., 2014. <<http://acici.cat/sites/default/files/sessions/2012/cat/ambientals.pdf>>)

1.1.4.1 Características del área de quirófano

Entre las características que debe poseer esta área se pueden mencionar las siguientes: (Cruzeta, G., 2014. <<http://acici.cat/sites/default/files/sessions/2012/cat/ambientals.pdf>>)

- Área controlada ambiental y microbiológicamente.
- Flujo de personal restringido.
- Temperatura controlada
- Humedad controlada.
- Flujo de aire controlado.

1.1.4.2 Áreas del quirófano

En el área de quirófano se distinguen 3 zonas:

- **Zona negra.-** Considerada como zona de protección, en la cual se revisan las condiciones de operación y preparación de los pacientes, además de trabajos administrativos relacionados con el personal.
- **Zona gris.-** Zona limpia, se debe usar vestimenta quirúrgica, cubrir el cabello con un gorro y la nariz y la boca con una mascarilla, en esta área se incluyen los pasillos de acceso al quirófano, únicamente tiene acceso personal autorizado.
- **Zona blanca.-** Es un área estéril, donde se encuentra la sala de intervenciones. (Cruzeta, G., 2014. <<http://acici.cat/sites/default/files/sessions/2012/cat/ambientals.pdf>>)

1.1.4.3 Clasificación de los quirófanos

Según las normas UNE-EN ISO 14644-1:2000 y UNE 100713:2005 la clasificación de los quirófanos se establece de la siguiente manera: (Sociedad Andaluza De Medicina Preventiva Y Salud Pública., 2014. <<http://www.sociedadandaluzapreventiva.com/wp-content/uploads/2014/09/Borrador-protocolo-bioseguridad-SAMPSP.pdf>>)

Cuadro 1-1: Clasificación de los Quirófanos

Tipo de Quirófano	UNE 100713:2005	UNE-EN ISO 14644-1:2000	Denominación quirófano	Tipo de intervención
A	Clase I	ISO clase 5	Quirófanos de alta tecnología. Cirugía Especial.	Transplante de órganos, cirugía cardíaca, cirugía vascular, cirugía ortopédica, neurocirugía.
B	Clase I	ISO clase 7	Quirófanos convencionales	Cirugía convencional y de urgencias. Resto de operaciones quirúrgicas
C	Clase I	ISO clase 8	Quirófanos de cirugía ambulatoria.	Cirugía ambulatoria Salas de partos.

Fuente: (Sociedad Andaluza de Medicina Preventiva y Salud Pública, 2014)

1.1.5 Análisis microbiológico

El control microbiológico del aire forma parte del proceso de aseguramiento de la calidad, que tiene en cuenta que la naturaleza microbiana, constituye un riesgo en cualquiera sea el campo de actividad. (Scharlab., 2014. <<http://www.cienytech.com/catalogos/Microbiologia/Controlsup.pdf>>)

El objetivo de realizar un análisis microbiológico es determinar la presencia de microorganismos en el ambiente de un área determinada, además de ello se cuantifica la concentración de los mismos y se realiza pruebas bioquímicas de identificación para detectar posibles especies patógenas, se puede evaluar la flora mesófila y la flora fúngica presente en el ambiente. (Scharlab., 2014. <<http://www.cienytech.com/catalogos/Microbiologia/Controlsup.pdf>>)

1.1.6 Estándares microbiológicos de calidad ambiental

Aunque no exista una normativa que indique los parámetros que se deben cumplir en cuanto a los valores de biocontaminantes, algunos organismos como la ACGIH (American Conferencie of Gubernamental Industrial Hygienists) indican que existen numerosos inconvenientes para poder establecer valores de referencia en cuanto a los límites de calidad microbiológica ambiental entre ellos detalla que:

- Existe una gran diversidad de microorganismos presentes en la naturaleza, y estos pueden modificarse debido al desarrollo de la actividad humana.
- Cada persona reacciona de manera diferente a los bioaerosoles, lo que para unos puede desencadenar graves enfermedades para otros no puede presentar ningún daño.
- Algunos microorganismos inhiben el crecimiento de otros.
- Dependiendo de cómo se recoja la muestra, la concentración de microorganismos puede variar ya que las muestras son recogidas puntualmente y durante un periodo de tiempo corto.
- Alrededor de partículas tanto de tipo orgánico como inorgánico se encuentran grandes concentraciones de microorganismos, es decir estos agentes no se encuentran solos o dispersos. (Sociedad Andaluza De Medicina Preventiva Y Salud Pública., 2014. <<http://www.sociedadandaluzapreventiva.com/wp-content/uploads/2014/09/Borrador-protocolo-bioseguridad-SAMPSP.pdf>>)

1.1.6.1 Estándares para la contaminación fúngica

Ya que no existe una normativa internacional aceptada, existe mucha desigualdad en bibliografía en cuanto a que clase de hongos son los que se deben valorar, según la Norma UNE 171340 se debería tomar en cuenta la presencia de hongos de las especies *Rizhopus*, *Mucor*, *Aspergillus* y *Scedosporim*.

Hay que tomar en cuenta que la presencia de una única colonia de cualquier tipo de los hongos nombrados anteriormente, en el aire de una zona de alto o muy alto riesgo ya se considera como fuera de lo normal y puede ser indicador de alguna falla en el sistema de aire, y por ello se convierte en un indicador para empezar a tomar medidas correctiva.

Las concentraciones de esporas de hongos en el aire de un Hospital puede tener lugar a variaciones, dependiendo de la zona geográfica en la cual este ubicado el establecimiento de salud, la época del año, la actividad que tenga la zona a muestrear, cambios de temperatura etc., pero a pesar de ello si una zona esta provista de filtros HEPA para el suministro de aire, el número de UFC/cm³ debe tener una concentración de 0 o cercana a este valor. (Sociedad Andaluza De Medicina Preventiva Y Salud Pública., 2014. <<http://www.sociedadandaluzapreventiva.com/wp-content/uploads/2014/09/Borrador-protocolo-bioseguridad-SAMPSP.pdf>>)

1.1.6.2 Estándares para la contaminación bacteriana

- ***Niveles de contaminación bacteriana: Aerobios mesófilos totales***

La Norma UNE 171340 expone que la valoración de la microbiota mesófila aerobia no es un parámetro que se debe evaluar en la validación de salas de ambiente controlado, pero es un punto a tomar en cuenta en el momento de clasificarlas. (Sociedad Andaluza De Medicina Preventiva Y Salud Pública., 2014. <<http://www.sociedadandaluzapreventiva.com/wp-content/uploads/2014/09/Borrador-protocolo-bioseguridad-SAMPSP.pdf>>)

- **Clasificación del ambiente en función de los recuentos microbiológicos de la microbiota mesófila.**

Cuadro 2-1: Clasificación del ambiente en función al recuento microbiológico

CLASIFICACION	VALOR	RESULTADO
Quirófanos de muy alto riesgo, y zonas de muy alto riesgo (ISO 5 e ISO 6 , Clase A)	< de 10 UFC/cm ³	Ambiente muy limpio
Quirófanos de alto riesgo, y zonas de alto riesgo (ISO 7 , Clase B)	10 - 100 UFC/cm ³	Ambiente Limpio
Quirófanos, y zonas de riesgo intermedio (ISO 8 , Clase C)	100 – 200 UFC/cm ³	Ambiente Aceptable

Fuente: Norma UNE-EN ISO 14644-1:2000.Salas limpias.

1.1.7 Métodos para el recuento de microorganismos en el aire

1.1.7.1 Método de sedimentación o técnica de la placa expuesta

Este método es el más sencillo para cuantificar microorganismos presentes en el medio ambiente; consiste en exponer una placa Petri abierta al ambiente durante un periodo de tiempo establecido, se incuba la placa durante 48 horas a 37 °C, este método presenta algunas ventajas como que se puede realizar en condiciones normales de trabajo y en tiempo real, además de ello es muy económico y no demanda mucho tiempo. Los resultados que se obtienen usando este método se expresa en UFC/cm²/hora, no es aconsejable que se exponga a la placa durante mucho tiempo ya que esta puede perder sus propiedades. (Scharlab., 2014. <<http://www.cienytech.com/catalogos/Microbiologia/Controlsup.pdf>>)

1.1.7.2 Método por impacto

Consiste en hacer pasar un volumen determinado de aire por un dispositivo creado para este fin , que contiene una rejilla y un medio de cultivo contra el cual se impacta el aire cargado de microorganismos, la velocidad a la cual se impacta el aire debe ser alta para poder captar las partículas, este método es costoso ya que se necesita de aparatos especiales , además de ello necesita de una persona capacitada para usarlo durante el muestreo, presenta ventajas como la disminución del tiempo de muestreo. (Scharlab., 2014. <<http://www.cienytech.com/catalogos/Microbiologia/Controlsup.pdf>>)

1.1.8 Métodos para el recuento de microorganismos en superficies

Para el muestreo microbiológico de superficies existen algunos métodos tales como:

- Contacto directo con el agar (placas Rodac)
- Enjuague y desprendimiento (bacterias adheridas).
- Hisopado y siembra directa.
- Hisopado y elución.

1.1.8.1 Método del hisopado o frotis

Se usa este método para el muestreo de superficies en el caso de que estas sean de difícil acceso, se deben considerar parámetros como textura de la superficie y que clase de microbiota se quiere recuperar, este método es muy rápido y económico para cuantificar e identificar microorganismos presentes en las superficies. (Scharlab., 2014. <<http://www.cienytech.com/catalogos/Microbiologia/Controlsup.pdf>>)

1.1.9 Cultivo bacteriano

El cultivo bacteriano es el proceso de crecimiento de microorganismos en un medio artificial, de esta forma se puede conseguir que las poblaciones bacterianas se observen con mayor facilidad a simple vista, y conseguir además cantidades suficientes para poder realizar los procedimientos de identificación bacteriana. (Bailey Y Scott., 2009. <<https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&pg=PR7&lpg=PR7&dq=bailey+y+scott+diagnostico+micr>>)

Para que las bacterias se desarrollen de manera exitosa en un medio de cultivo es necesario cumplir con algunos requisitos nutricionales como ambientales. (Bailey Y Scott., 2009. <<https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&pg=PR7&lpg=PR7&dq=bailey+y+scott+diagnostico+micr>>)

1.1.9.1 Requerimientos nutricionales

Para que los microorganismos alcancen un desarrollo máximo en un medio de cultivo, es necesario que se cumplan con las necesidades nutricionales de éstos, así como agua, fuentes de carbono y energía, proteínas, iones nitrógeno entre otros. Estos nutrientes en un laboratorio se incorporan en los diferentes medios de cultivo; dado que existen distintos tipos de bacterias, también existen diferentes tipos de medios de cultivo que satisfacen las necesidades de las distintas clases de microorganismos. (Bailey Y Scott., 2009. <<https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&pg=PR7&lpg=PR7&dq=bailey+y+scott+diagnostico+micr>>)

1.1.9.2 Requerimientos ambientales

Para favorecer el desarrollo microbiano es necesario optimizar las condiciones ambientales y cubrir las necesidades nutricionales de los microorganismos, entre los factores ambientales se puede destacar la disponibilidad de oxígeno y de dióxido de carbono, la temperatura, el contenido de humedad del medio y de la atmósfera y el pH. (Bailey Y Scott., 2009.

<https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&pg=PR7&lpg=PR7&dq=bailey+y+scott+diagnostico+micr>

Disponibilidad de Oxígeno y de Dióxido de carbono.- La mayor parte de las bacterias son aerobias, anaerobias facultativas o anaerobias estrictas. Las bacterias aerobias usan el oxígeno como aceptor terminal de electrones y por ello crecen en el aire, los anaerobios facultativos pueden crecer en presencia o ausencia de oxígeno, las bacterias anaerobias no pueden usar el oxígeno como aceptor de electrones.

Humedad.- El agua es un constituyente fundamental de los medios de cultivo ya que las bacterias la utilizan para llevar a cabo sus reacciones metabólicas indispensables para su desarrollo, al perderse el agua por evaporación en la estufa puede darse un aumento en la concentración de solutos del medio, y dicho aumento puede producir un choque osmótico de la célula bacteriana y causar lisis.

Temperatura.- La mayoría de bacterias patógenas se multiplican mejor a una temperatura de 37 °C, temperatura similar a los tejidos y órganos del cuerpo, es por ello que la mayoría de bacterias se incuban a una temperatura entre 35 y 37 °C.

pH.- Indica la medida de concentración de iones hidrógeno en el ambiente de un microorganismo, los valores menores a 7 indican que el ambiente es ácido, valores mayores a 7 indican condiciones alcalinas, y un valor de 7 indica un pH neutro, la mayoría de bacterias crecen en valores de pH de 6.5 a 7. (Bailey Y Scott., 2009.

<https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&pg=PR7&lpg=PR7&dq=bailey+y+scott+diagnostico+micr>

1.1.9.3 Fases de los medios de cultivo

Los medios de crecimiento bacteriano se pueden usar en dos diferentes fases: líquida (caldo) o sólida (agar); en los medios líquidos los nutrientes se encuentran disueltos en el agua y el crecimiento bacteriano se revela por un cambio de aspecto en el caldo, que pasa de ser limpio a turbio, cuanto más turbio se torna el caldo es porque en el existen una mayor cantidad de bacterias, la turbidez del medio se debe a la deflexión de la luz que ocasionan las bacterias presentes en el cultivo, requiriéndose por lo menos 10^6 bacterias por ml para que la turbidez

sea observada a simple vista. (Bailey Y Scott., 2009.

<https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&pg=PR7&lpg=PR7&dq=bailey+y+scott+diagnostico+micr>

Para la elaboración de medios sólidos se añade un agente solidificante al agua y a los nutrientes, este puede ser la agarosa que tiene la propiedad de fundirse a temperaturas altas (95°C) y solidificarse cuando su temperatura disminuye a 50°C, al enfriarse se forma un gel sólido denominado agar. (Bailey Y Scott., 2009.

<https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&pg=PR7&lpg=PR7&dq=bailey+y+scott+diagnostico+micr>

1.1.9.4 Clasificación y funciones de los medios de cultivo

Medios de Enriquecimiento.- Contienen nutrientes específicos necesarios para el crecimiento de determinadas bacterias que pueden encontrarse solas o con otras especies en una misma muestra. Esta clase de medios se usa para favorecer al desarrollo de una bacteria en específico, partiendo de una mezcla de microorganismos mediante el uso de especificidad de nutriente. Ejemplo: agar amortiguado con carbón y extracto de levadura que favorece el crecimiento de *Legionella pneumophila*.

Medios Nutritivos.- Están previstos de nutrientes que favorecen el desarrollo de la mayoría de los microorganismos sin necesidades especiales de cultivo, no favorece el crecimiento de un microorganismo en específico. Ejemplo: Agar sangre

Medios Selectivos.- Contienen agentes que no permiten el desarrollo de todos los microorganismos excepto el del que se está buscando, es decir seleccionan el crecimiento de ciertas bacterias e inhiben el crecimiento de otras. Ejemplo: agar con alcohol feniletílico que inhibe el crecimiento de bacterias Gram negativas y favorece el crecimiento de los Gram positivos.

Medios diferenciales.- Contiene factores que permiten que las colonias de una especie exhiban ciertas características metabólicas o de cultivo que permitan diferenciarlas de otras bacterias que crezcan en el mismo agar. Ejemplo inhibe el desarrollo de Gram positivas, se usa para la identificación de bacterias Eterobacteriaceae y otros microorganismos Gram negativos. (Bailey Y Scott., 2009.

<https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&pg=PR7&lpg=PR7&dq=bailey+y+scott+diagnostico+micr>

1.1.9.5 Preparación de medios artificiales o medios de cultivo

La mayoría de medios se encuentran disponibles en las casas comerciales que ofrecen productos o insumos para laboratorios, listos para usarse en placas de agar o en tubos con caldo, pero también se puede preparar medios sólidos y líquidos con polvos deshidratados que se reconstituyen con agua destilada.

Por lo general se disuelve una cantidad específica del medio en polvo en cierta cantidad de agua, y se somete a ebullición para disolver bien el polvo, todo de acuerdo con las especificaciones del fabricante. La mayoría de medios necesitan esterilización posterior a su preparación ya que de esta manera se eliminan posibles contaminantes del agua y polvo, asegurando que en el medio únicamente crecerán los microorganismos de las muestras que se vayan a recoger. (Bailey Y Scott., 2009. <<https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&pg=PR7&lpg=PR7&dq=bailey+y+scott+diagn+micr>>)

- **Esterilización de los medios**

Se esterilizan los medios usando la autoclave que usa vapor de agua, temperatura y presión para eliminar los microorganismos, para una adecuada esterilización el autoclave debe llegar a una temperatura de 121°C por un tiempo de 30 minutos. (Bailey Y Scott., 2009. <<https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&pg=PR7&lpg=PR7&dq=bailey+y+scott+diagnostico+micr>>)

1.1.10 Identificación bacteriana

La identificación bacteriana radica en la asignación de un microorganismo a un taxón para ubicarlo dentro de una clasificación definida, para ello es necesario determinar características fenotípicas o genotípicas de los microorganismos para luego poder ser comparadas con las diferentes categorías de la clasificación. (Bou, G., et all. 2011. <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-metodos-identificacion-bacteriana-el-laboratorio-90027188#elsevierItemBibliografias>)

Las técnicas de identificación bacteriana constituyen un procedimiento indispensable e irremplazable en el momento de establecer los taxones a los cuales pertenece un microorganismo, en microbiología clínica la identificación bacteriana juega un papel muy importante ya que permite conocer el agente etiológico causante de algún tipo de infección y de este manera dar un tratamiento efectivo. (Bou, G., et all. 2011. <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-metodos-identificacion-bacteriana-el-laboratorio-90027188#elsevierItemBibliografias>)

Se pueden mencionar los métodos fenotípicos que tienen algunas limitaciones, y también existen los métodos moleculares que permiten cubrir las falencias de otros métodos, sin embargo su implementación no se extiende universalmente ya que es muy costosa requiere de un alto grado de especialización para su aplicación . (Bou, G., et all. 2011. <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-metodos-identificacion-bacteriana-el-laboratorio-90027188#elsevierItemBibliografias>)

1.1.10.1 Métodos para la identificación bacteriana

La mayor parte de los procesos para identificación bacteriana no incluyen un solo método , si no una combinación de ellos , y para cualquiera sea el caso es necesario aislar el germen ya que de esta forma se facilita su identificación, los pasos a seguir para una correcta determinación bacteriana son:

Métodos fenotípicos.- la identificación fenotípica bacteriana está basada principalmente en la comparación de las características fenotípicas de las bacterias desconocidas con las características que presentan bacterias conocidas en el mismo medio. Los resultados dependen notablemente del número de características similares. (Bou,G.,et all. 2010 <<http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>>)

Todas las características fenotípicas son de gran importancia y se deben tomar en cuenta en el momento de iniciar con un proceso de identificación bacteriana, en un principio se pueden usar pruebas primarias que son sencillas y rápidas de realizar, como la tinción Gram, oxidasa y catalasa, crecimiento en distintos tipos de cultivo, morfología de las colonias entre otras. Al utilizar estas pruebas se puede situar a las bacterias de manera temporal en una categoría, a pesar de ello es necesario seleccionar otras pruebas con mayor poder discriminatorio ya que muchos microorganismos pueden presentar aspectos similares en los exámenes micro y macroscópicos. (Bou,G.,et all. 2010 <<http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>>)

Cultivo puro .- se debe procurar conseguir un cultivo axénico o puro a partir de la muestra , esto se puede lograr a través del uso de medios de cultivo sólidos selectivos . (Bou, G., et all. 2011. <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-metodos-identificacion-bacteriana-el-laboratorio-90027188#elsevierItemBibliografias>)

Morfología microscópica y Características tintoriales.- la evaluación microscópica de la morfología celular bacteriana a través de métodos como la tinción GRAM , clasifica a los

microorganismos en GRAM POSITIVOS y GRAM NEGATIVOS , además de ello se puede diferenciar su forma y dividirlos en cocos y bacilos. (Bailey Y Scott., 2009. <<https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&pg=PR7&lpg=PR7&dq=bailey+y+scott+diagnostico+micr>>)

- **Morfología Microscópica:** ya que los organismos poseen características similares bajo el microscopio resultan un poco difíciles de identificar es por ello que existen técnicas como la Tinción Gram que ayuda en la identificación bacteriana. (Bailey Y Scott., 2009. <<https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&pg=PR7&lpg=PR7&dq=bailey+y+scott+diagnostico+micr>>)

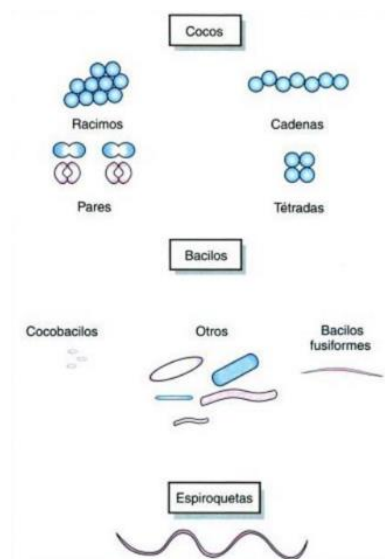


Figura 1-1: Morfología celular bacteriana, reacciones de la tinción Gram

Fuente: Bailey y Scott. Diagnóstico Microbiológico.

- **Tinción Gram:** Diseñada en 1884 por Christian Gram, esta técnica se utiliza de manera rutinaria en estudios microbiológicos ya que es sencilla y rápida; consiste en aplicar algunos colorantes sobre una muestra seca de cualquier origen , de esta forma las bacterias Gram negativas se teÑirán de color rosado y las Gram positivas de color morado, además se puede diferenciar su morfología ya sea esta cocoidea o bacilar. (Bou, G., et all. 2011. <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-metodos-identificacion-bacteriana-el-laboratorio-90027188#elsevierItemBibliografias>)

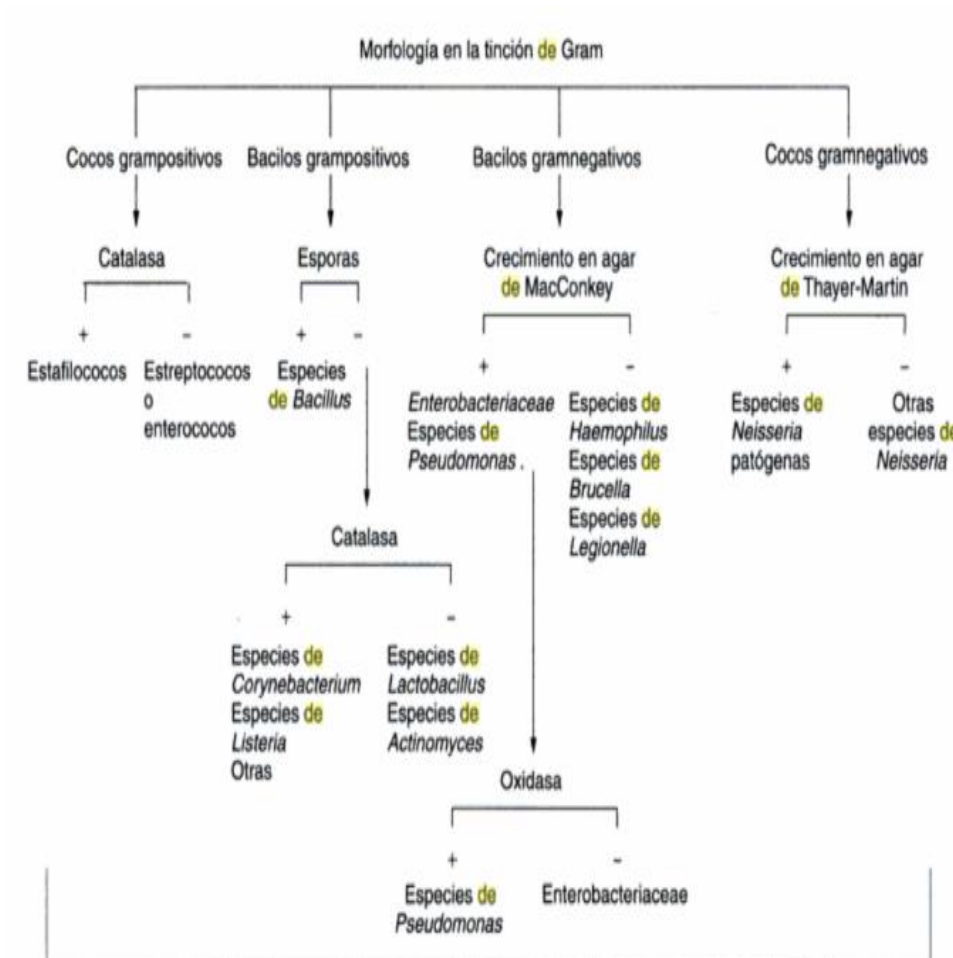


Figura 2-1: Morfología en la tinción Gram

Fuente: Bailey y Scott. Diagnóstico Microbiológico

- **Aspecto macroscópico**

Evaluación de la morfología de la colonia.- consiste en observar de que manera crecen las colonias en los medios de cultivo es decir su morfología, producción de pigmentos, hemólisis etc ya que cada bacteria crece de manera diferente dando origen a colonias de distinto color, olor, forma, textura, brillo etc ; de esta forma se puede dirigir el resultado hacia un grupo menos amplio de bacterias .

Aunque muchos de estos criterios son subjetivos y la terminología usada puede variar de un laboratorio a otro, la evaluación macroscópica constituye un paso importante para el inicio de la identificación bacteriana. (Bailey Y Scott., 2009. <<https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&pg=PR7&lpg=PR7&dq=bailey+y+scott+diagnostico+micr>>)



Figura 3-1: Características morfológicas de las colonias.

Fuente: Bailey y Scott. Diagnóstico Microbiológico

- **Realización de pruebas de Identificación.**- las más comunmente usadas son las pruebas bioquímicas para poder evidenciar la actividad enzimática característica de la bacteria. Este tipo de pruebas se fundamenta en demostrar si la bacteria es capaz de fermentar azúcares o no, la presencia de enzimas, la degradación de compuestos o producción de compuestos coloreados; las pruebas bioquímicas abarcan 3 tipos de estudios: (Bou, G., et al. 2011. <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-metodos-identificacion-bacteriana-el-laboratorio-90027188#elsevierItemBibliografias>)
 - Enzimas del metabolismo bacteriano
 - Requerimientos nutricionales
 - Pruebas de resistencia antibiótica de los microorganismos.

Estas pruebas se pueden dividir en :

Pruebas Primarias.- en este grupo se incluyen pruebas como: catalasa, oxidasa, prueba de Oxidación-Fermentación, movilidad, anaerobiosis etc. (Bou, G., et al. 2011. <http://www.elsevier.es/es->

Enzimas vinculadas a la respiración

Prueba de la Oxidasa: o también llamada citocromo oxidasa, es una enzima de la cadena de transporte de electrones del metabolismo respiratorio de algunas bacterias, de esta forma se puede diferenciar entre bacterias del género enterobacterias que son de tipo Gram negativo y oxidasa negativo y bacterias del género pseudomonas que también son de tipo Gram negativo pero Oxidasa positiva, la prueba se fundamenta en que el reactivo de Kovacs que es incoloro al entrar en contacto con la enzima citocromo oxidasa cambia de color a morado, debido a que la tetrametil p-fenilendiamina al oxidarse produce quinolonas de color morado.

Catalasa: las bacterias descomponen el agua oxigenada en agua y oxígeno molecular, y ayuda a diferenciar entre los grupos de cocos Gram positivos a los staphylococos que son catalasa positiva de los estreptococs que son catalasa negativa. (Bou, G., et al. 2011. <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-metodos-identificacion-bacteriana-el-laboratorio-90027188#elsevierItemBibliografias>)

Pruebas Secundarias y Terciarias: Se utilizan para determinar la especie de la bacteria incluye pruebas como indol, ureasa, coagulasa etc.

Utilización de una fuente única de carbono

Citrato: se usa para diferenciar especies de enterobacterias capaces de usar al citrato como única fuente de carbono. (Bou, G., et al. 2011. <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-metodos-identificacion-bacteriana-el-laboratorio-90027188#elsevierItemBibliografias>)

Descomposición de aminoácidos

- Prueba del Indol: detecta la producción de indol a partir de triptófano
- Producción de SH₂: se basa en la producción de ácido sulfhídrico partiendo de aminoácidos azufrados.
- Urea: fundamentada en la capacidad de muchas bacterias de descomponer la urea en amoníaco, agua y anhídrido carbónico.

- Citrato: se usa para diferenciar especies de enterobacterias capaces de usar al citrato como única fuente de carbono. (Bou, G., et al. 2011. <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-metodos-identificacion-bacteriana-el-laboratorio-90027188#elsevierItemBibliografias>)

Detección de exoenzimas

Prueba de la coagulasa: basada en la capacidad de las bacterias para coagular el plasma sanguíneo por desnaturalización de la fibrina, se usa para diferenciar principalmente al *Staphylococcus aureus* que es coagulasa positiva del resto de estafilococos.

Hemólisis: puede presentarse

- Hemólisis completa: conocida como β hemólisis, en este caso las bacterias forman halos claros alrededor de las colonias.
- Hemólisis parcial: o α hemólisis se forman halos translúcidos verdosos alrededor de las colonias.
- Hemólisis gamma: no se forma ningún halo alrededor de las colonias bacterianas. Citrato: se usa para diferenciar especies de enterobacterias capaces de usar al citrato como única fuente de carbono. (Bou, G., et al. 2011. <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-metodos-identificacion-bacteriana-el-laboratorio-90027188#elsevierItemBibliografias>)

Sistemas de Identificación Multitest y Automáticos .- la identificación bacteriana por métodos fenotípicos es un método seguro que dependiendo del tipo de bacteria puede volverse un proceso largo y complejo , es por ello que se ha desarrollado kits comerciales de pruebas agrupadas para identificación de microorganismos, estos sistemas pueden presentar algunas ventajas como :

- Facilitar la interpretación de resultados usando valores numéricos.
- Poseer reactivos listos para su uso
- Proveer de el mejor conjunto de pruebas bioquímicas para la identificación de microorganismos.

Anterior al uso de cualquier sistema de identificación bacteriana es necesario identificar el tipo de microorganismo, mediante coloración GRAM para garantizar el uso del kit correcto de identificación.

(Bailey Y Scott., 2009. <<https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&pg=PR7&lpg=PR7&dq=bailey+y+scott+diagnostico+micr>>

Compact Dry

Es un método sencillo y seguro de identificación y cuantificación de microorganismos, posee indicadores redox y sustratos cromógenos que permiten que las colonias bacterianas crezcan en colores específicos, además se pueden extraer las colonias que sean necesarias con facilidad para posteriores estudios. (Hyserve GmbH CO. kg., < http://hyserve.de/files/CompactDry_ES.pdf >)

- *Compact Dry TC (índice de germinación total)*

Las colonias bacterianas se presentan de color rojo, el Compact Dry TC es un medio que contiene agar de cultivo estándar y que sirve para comprobar el índice de germinación total. El color rojo se manifiesta ya que contiene sal de tetrazol, que es un indicador redox. (Hyserve GmbH CO. kg., < http://hyserve.de/files/CompactDry_ES.pdf >)

- *Compact Dry EC (e.coli y coliformes)*

Este medio de cultivo posee dos sustratos enzimáticos cromógenos: Magenta-GAL y X-Gluc, de esta forma las colonias de coliformes crecen como colonias rojas, y las colonias de e.coli como azules al sumar las colonias rojas y azules da como resultado la cifra total del grupo coliforme. (Hyserve GmbH CO. kg., < http://hyserve.de/files/CompactDry_ES.pdf >)

- *Compact Dry CF para coliformes*

Compact Dry CF se utiliza para la detección rápida de coliformes: debido al sustrato cromógeno X-Gal se forman colonias características de color azul/verde-azuladas. Se inhibe casi totalmente el crecimiento de otros tipos de bacterias. (Hyserve GmbH CO. kg., < http://hyserve.de/files/CompactDry_ES.pdf >)

- *Compact Dry YM para levadura y mohos*

Los hongos y levaduras que crecen sobre estos sustratos cromógenos pueden manifestarse de diferentes colores debido a que sufren diferentes reacciones cromáticas, facilitando su detección, el sustrato cromógeno X-Phos provoca una coloración azul en prácticamente todas las levaduras. El crecimiento bacteriano se inhibe mediante antibióticos.

Las placas compact dry poseen cavidades gracias a las cuales los mohos desarrollan su forma tridimensional característica en distintos colores. (Hyserve GmbH CO. kg., < http://hyserve.de/files/CompactDry_ES.pdf >)

Microgen™ GnA + B- ID System

Este Sistema de identificación bacteriana utiliza sustratos bioquímicos estandarizados para identificación de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* y otros bacilos no exigentes Gram negativos. (Microgen Bioproducts Ltd., <<http://www.medica-tec.com/arg/files/MICROGEN-GN-ID-MID65%20y%20MID641.pdf>)

El sistema Microgen GN-ID comprende dos tiras de micropocillos por separado (GN A y GN B). Cada tira contiene 12 sustratos bioquímicos estandarizados que han sido seleccionados en función de un análisis informático muy extenso de las bases de datos publicadas para la identificación de la familia *Enterobacteriaceae* y los microorganismos Gram negativos oxidasa positivos y negativos no exigentes más comunes. Los sustratos deshidratados en cada pocillo se reconstituyen con una suspensión salina del organismo a identificar. Si los sustratos son metabolizados por el organismo, se observará un cambio de color durante la incubación o después de la adición de reactivos específicos. La permutación de los sustratos metabolizados se puede interpretar usando el Software Microgen Identificación (MID-60) para identificar el organismo analizado. Las tiras de GN A han sido diseñadas para la identificación de fermentadores de glucosa oxidasa negativos, nitrato positivas que incluyen los géneros más comunes de la familia *Enterobacteriaceae*. Las tiras GN A y GN B se utilizarán conjuntamente obteniendo un sistema con 24 sustratos para identificar bacilos Gram negativos no-exigentes (oxidasa negativos y positivos) además de todas las especies de la familia *Enterobacteriaceae*. (Microgen Bioproducts Ltd., <<http://www.medica-tec.com/arg/files/MICROGEN-GN-ID-MID65%20y%20MID641.pdf> >

1.2 Antecedentes de la Investigación

En un estudio realizado por Juan Cobos López, de la Universidad de Alcalá en un período comprendido entre el año 2005 y 2008 donde se analizó la calidad microbiológica ambiental fúngica en zonas de alto riesgo hospitalario del Hospital Universitario de Guadalajara , mediante un estudio descriptivo usando soportes informáticos así como la información aportada por los informes anteriores . Se obtuvieron muestras volumétricas de 1m³ de aire de climatización y del centro de zonas de alto riesgo de contaminación, cada muestra fue cultivada en placas Petri en Agar Saboreaud, Cloranfenicol, durante 5 días para diagnosticar hongos, prestandole mayor atención a los del género *Aspergillus*, *Rizhopus* y *Mucor*. Los resultados obtenidos demostraron que el género más frecuente fue el *Penicillium spp* (50%) seguido del *Aspergillus* (25%), y que estos son más frecuentes en las estaciones de invierno y primavera. (Cobos, J., 2008<http://www.conama9.conama.org/conama9/download/files/CTs/985744_JCobos.pdf>)

Ma. Del Carmen de la Rosa, y colaboradores del Departamento de Microbiología perteneciente a la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, durante el período 1996-1998 realizaron un análisis microbiológico del aire de una zona limpia de envasado aséptico de materias primas en una industria farmacéutica con el fin de determinar los niveles y los tipos de microorganismos presentes. Se tomaron 569 muestras en siete puntos de la zona limpia durante 18 meses, mediante los métodos de gravedad e impacto (Biotest RCS Plus). La media del número de bacterias y hongos obtenidos fueron 2,4 y 2,7 ufc/30 min por el método de gravedad y 13 y 1,1 ufc / m³ por el método de impacto, respectivamente. Se han encontrado más muestras con bacterias (51%) que con hongos (33%), predominando los cocos sobre los bacilos y los mohos sobre las levaduras. No se detectaron bacterias Gram negativas. Los géneros bacterianos más frecuentes fueron: *Staphylococcus* (27,4 %), *Micrococcus* (9,7%), *Bacillus* (8%), *Corynebacterium* (7,4%) y *Arthrobacter* (6,7%) y los de hongos: *Penicillium* (7,2%), *Curvularia* (6,3%) y *Aspergillus* (4,4%). La calidad microbiológica de la zona limpia ha sido elevada ya que todas las muestras cumplieron los límites de grado C y el 32% los de grado A establecidos por la Unión Europea. (De la Rosa, M., 2000 <<http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-control-microbiologico-ambiental-90207102>>)

En una investigación realizada por Zambrano – Gari y Luna Fontalvo, en Santa Marta –Colombia en el 2013, se procedió a evaluar la diversidad microbiana presente en el ambiente y las superficies de la Clínica Odontológica de la Universidad de Magdalena se realizaron cuatro monitoreos, en cada uno 16 puntos de muestreo: seis bandejas y siete lámparas de diferentes unidades odontológicas, la sala de esterilización, sala de cirugía y la sala de espera. Se emplearon técnicas de sedimentación en placas estáticas y barrido con tórula para el estudio microbiológico del ambiente y superficies respectivamente. Se encontró que el ambiente de la sala de espera tuvo mayor abundancia de bacterias y hongos. El género *Staphylococcus* fue recuperado en mayor proporción con 48.790 UFC/m²/30 minutos, y el recuento total de hongos fue de 13.150 UFC/m²/30 minutos. En menor escala se determinaron los géneros bacterianos *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Moraxella* y el grupo de los coliformes totales. Se identificaron hongos de los géneros *Aspergillus*, *Curvularia*, *Geotrichum* y *Haplosporangium*, demostrando que las condiciones del ambiente externo de la clínica influyen directamente sobre la concentración de microorganismos presentes en la sala de espera.

Los resultados obtenidos del análisis de superficies de bandejas y lámparas de las unidades odontológicas correspondieron en mayor proporción con los microorganismos mencionados anteriormente. (Zambrano-Gari, C., & Luna-Fontalvo, J., 2013, <<http://revistas.unimagdalena.edu.co/index.php/intropica/article/view/733>>.)

En un estudio realizado por Izzeddin, y colaboradores del Centro de Investigaciones Microbiológicas Aplicadas, Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad de Carabobo en donde se realizaron evaluaciones en ambientes hospitalarios de centros de salud ubicados en la ciudad de Valencia, Venezuela, tomando en cuenta áreas críticas como quirófanos. Para la captación de las muestras se tomó en cuenta las metodologías establecidas en las Normas Técnicas Españolas. La captación del aire sobre los medios de cultivo Nutritivo y Saboreaud se incubaron a 37°C de 24-72 horas, para determinar UFC/m³ de aire. La identificación microbiológica se realizó utilizando galerías bioquímicas automatizadas (API). De los 6 centros hospitalarios evaluados, 5 quirófanos presentaron más de 10 UFC/m³ de aerobios mesófilos y más de 20 UFC/m³ de población fúngica, cuyo rango debería ser menor a 10 UFC/m³. Los microorganismos identificados con mayor frecuencia fueron: *Staphylococcus* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus* spp., *Acinetobacter lowfii*, *Aspergillus nidulans*, *A. terreus* y *Geotrichum candidum*. (Izzedin, et al, 2011, <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222011000100008&lng=es&nrm=iso>)

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1 Área de estudio

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Hospital IESS de la ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo, las áreas que se involucraron en el estudio fueron los 4 quirófanos.



Figura 1-2: Mapa de la provincia de Chimborazo
Fuente: Google maps.

2.2 Unidad/es de Análisis o muestra

- Población: Hospital IESS de la ciudad de Riobamba
- Muestra: Superficies y aire de las áreas de quirófono.
- Unidad de Análisis: microorganismos aislados, cuantificados e identificados de las áreas antes expuestas.

Cuadro 1-2: Población y muestras.

Área	Lugares muestreados
Quirófano N.1	Mesa de anestesia, mesa quirúrgica, paredes, teléfono, aire.
Quirófano N.3	Lámpara cielítica, mesa quirúrgica, mesa de anestesia, material estéril (pinzas), rejilla de aire, aire.
Quirófano N.4	Mesa de anestesia, mesa quirúrgica, pre lavabo, tambores de material estéril, paredes, aire.
Quirófano N.5	Balanza neonatal, mesa semilunar para instrumentación, mesa quirúrgica, mesa de anestesia, aire.
Sala de recuperación.	Mesa de preparación de medicamentos, estación de enfermería, camilla para pacientes, aire.

Realizado por: Pérez Gabriela, 2016

2.2.1 Materiales

- Cajas Petri
- Medios de cultivo (Agar sangre, Agar Mueller – Hinton, Agar Mc Conkey)
- Autoclave
- Asa de platino
- Palillos estériles
- Hisopos estériles
- Puntas estériles
- Placas porta objetos
- Mechero
- Microscopio
- Estufa
- Guantes
- Mascarillas
- Balanza

Reactivos

- Cristal violeta
- Lugol
- Safranina
- Alcohol acetona
- Agua oxigenada
- Solución. Fisiológica
- Tiras reactivas para oxidasa
- Kit de identificación bacteriana Microge ID™ Gn A+ B
- Reactivo de Kovac's
- Reactivo VP I y VP II
- Reactivo TDA
- Reactivo Nitrato A y Nitrato B
- Compact Dry

2.3 Recolección de datos

2.3.1 Técnicas de recolección de datos

Observación.- método científico que establece una relación entre observador y objeto, con el propósito de describir y explorar ambientes de manera objetiva para poder cuantificar e identificar las variables ya expuestas.

Toma de muestras.- Las muestras microbiológicas ambientales y de superficies que se obtuvieron de las áreas de quirófano del Hospital IEISS de la ciudad de Riobamba, se tomaron de lugares como mesones, mesa de operación, mesa de instrumentación, lavabos, sistemas de flujo de aire etc.; para recoger las muestras de aire se usó el método No Volumétrico de sedimentación, mientras que para muestrear las superficies se utilizó el método del hisopado.

Análisis Microbiológico.- las muestras correctamente identificadas se llevaron al laboratorio, para ser incubadas, tras 24 horas de este proceso se realizó el recuento de UFC y se aplicó las técnicas de identificación microbiológica adecuadas, partiendo de pruebas sencillas como la oxidasa y catalasa, se realizó también un frotis bacteriano para poder realizar la coloración Gram e identificar las características morfotintoriales de los microorganismos aislados, posterior a ello

se utilizó un kit de identificación bacteriana lo que permitió conocer los tipos de bacterias existentes en estas áreas.

Cuadro 2-2: Matriz de recolección de la información

Lugar	Hospital Público de Riobamba
Estudio	Análisis Microbiológico ambiental y de superficies
Objetivo	Identificar y cuantificar la carga microbiana presente en el ambiente y superficies.
Autor	La investigadora
Técnicas de muestreo	Sedimentación e Hisopado
Técnica de recolección de datos	Observación

Realizado por: Pérez Gabriela, 2016.

2.3.2 *Recolección de muestras*

Cuadro 3-2: Toma de muestras

¿Dónde?	¿Cómo?
A 50 cm de la salida de aire.	Aire: Por sedimentación
En el centro del quirófano, a 1 metro de altura del suelo	Superficies: Hisopado

Fuente: (Sociedad Andaluza de Medicina Preventiva y Salud Pública, 2014)

Se tomó las muestras cuando las áreas a muestrear estaban libres, para valorar la estructura y climatización de las salas. (Ezpeleta,C.,2012.

<<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/pocedimientosmicro/>>)

2.3.3 *Técnica de recogida de muestras por Métodos no volumétricos*

Muestreo por el método de sedimentación

- Se recomiendan un mínimo de 6 puntos de muestreo: uno a la entrada de aire y el resto en el entorno del enfermo (mesa quirúrgica, cama del paciente), realizando la toma a un metro de altura.
- El muestreo se aplicó antes de iniciar cualquier actividad quirúrgica
- Dada la variabilidad a la que puede estar sometido este procedimiento de muestreo, se colocarán siempre dos placas en cada punto de muestreo.

- Valorar los falsos positivos (placas contaminadas de origen), que suelen presentar crecimiento de bacterias en sus bordes.
- En caso de que exista crecimiento en una placa y no en la otra de su par, se repetirá el muestreo completo. (Bou, G., et all. 2011. <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-metodos-identificacion-bacteriana-el-laboratorio-90027188#elsevierItemBibliografias>)

Muestreo por el método del hisopo

- Se definió el área donde tomó la muestra. (plantilla de 100 cm²)
- El hisopo estéril se frotó sobre la superficie a evaluar, en dos direcciones distintas, rotándolo ligeramente.
- Luego se frotó el hisopo sobre la placa con medio de cultivo.
- Se incubó durante 24 horas y se cuantificó el número de colonias desarrolladas.
- Se calculó el número de ufc/área. (Bou, G., et all. 2011. <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-metodos-identificacion-bacteriana-el-laboratorio-90027188#elsevierItemBibliografias>)

2.3.4 Frecuencia y puntos de muestreo

La frecuencia del muestreo se basa en que tipo de área es la que se va a muestrear: (Sociedad Andaluza De Medicina Preventiva Y Salud Pública., 2014. <<http://www.sociedadandaluzapreventiva.com/wp-content/uploads/2014/09/Borrador-protocolo-bioseguridad-SAMPSP.pdf>>)

Cuadro 4-2: Frecuencia y Puntos de Muestreo

FRECUENCIA	LUGAR	PUNTOS DE MUESTREO
Mínima ANUAL	<ul style="list-style-type: none"> • Validación de condiciones de uso (Parámetros Ambientales y de instalación) 	Según local
Quincenal	<ul style="list-style-type: none"> • Zonas de aislamiento Onco-Hematológicos y Unidades de Quemados 	1 punto a nivel de la cama
Mensual	<ul style="list-style-type: none"> • Quirófanos de muy alto riesgo- tipo A: Trasplantes cardiovascular, prótesis, neurocirugía, oftalmología 	1 punto a nivel de la mesa de operaciones.
Trimestral	<ul style="list-style-type: none"> • Quirófanos de alto riesgo Tipo B. Cirugía Convencional y de Urgencias destinados al resto de intervenciones quirúrgicas y cesáreas • Salas de hemodinámica y vascular intervencionista. • Pasillo y almacén de estéril 	1 punto a nivel de la mesa de intervenciones 1 punto a nivel de ubicación del paciente. 1 punto a nivel de estantería estéril
Trimestral	<ul style="list-style-type: none"> • Zonas de envasados, preparación de medicamentos y alimentación parenteral. • Campana de preparación de citostáticos. 	1 punto en la zona de preparación 1 punto bajo la campana de flujo laminar

Fuente: (Sociedad Andaluza de Medicina Preventiva y Salud Pública, 2014)

2.3.5 Transporte y conservación de la muestra

Las muestras una vez recogidas fueron llevadas en el menor tiempo posible hacia el Laboratorio de Microbiología, se colocó papel aluminio para evitar cualquier tipo de contaminación exterior durante su traslado, las muestras se llevaron codificadas claramente indicando cada especificación necesaria como el punto de la cual procedía, si fue tomada con o sin personal dentro del área etc. (Ezpeleta,C.,2012. <<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/pocedimientosmicro/>>)

2.3.6 Procesamiento de la muestra

Una vez que las muestras llegaron al Laboratorio de Microbiología estas se colocaron en la estufa convencional, leyendo diariamente las cajas para detectar el crecimiento bacteriano lo más temprano posible, se tuvo especial cuidado en el momento que se manipulan las muestras ya que se podían contaminar por una inadecuada manipulación.

Durante cada lectura se debe realizó el recuento de colonias y llevó el registro de la evaluación macroscópica de las colonias. (Ezpeleta,C.,2012. <<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/pocedimientosmicro/>>)

2.3.7 Selección de medios de cultivo y condiciones de incubación

Dependiendo el tipo de microorganismo que queremos aislar se usaron los siguientes agares:

Cuadro 5-2: Medios de Cultivo Incubación y Lectura

Flora	Medios de Cultivo	T de incubación	Tiempo de Incubación	Resultados
Aerobios Mesófilos Totales	Agar Sangre	35-37 °C	72 horas	Lectura cada 24 horas , informe final al 3er día
Hongos	Agar Saboreaud	<u>OPCION 1</u> (UNE 171340) 1. Estufa a 37 °C 2. T ambiente(21 a 25 °C)	48 horas 72 horas	Lectura cada 24 horas (Informe final al 3er día)
		<u>OPCION 2</u> Incubación en estufa a 25 °C	5 días	

Fuente: (Sociedad Andaluza de Medicina Preventiva y Salud Pública, 2014)

2.3.8 Utilización de las placas COMPACT DRY

Las placas compact dry son fáciles de manejar:

- Se tomó 1mL de solución fisiológica estéril para humedecer la placa y se colocó sobre la misma.
- Esperó a que se difunda de forma homogénea sobre toda la placa.
- Se dejó la placa expuesta al ambiente durante 20 minutos.
- Se cerró la placa y se llevó a incubación durante el tiempo adecuado y a la temperatura indicada. : (Hyserve Gmbh CO. kg., < http://hyserve.de/files/CompactDry_ES.pdf >)

Tabla 1-1: Condiciones de temperatura y tiempo de incubación para las placas Compact Dry

Producto	Tiempo de incubación	Temperatura de Incubación
Compact Dry TC para indice de germinación total	48 horas	35± 2°C (20-42°C)
Compact Dry TC para E.coli y coliformes	24 horas	35 ± 2 °C
Compact Dry TC para coliformes.	18-24 horas	35 ± 2 °C 40-42 °C para coliformes fecales
Compact Dry TC para YM para levaduras y mohos.	3-7 días	25-30 °C

Fuente: (Manual Técnico Compact Dry)

2.3.9 Técnicas de Identificación

Frotis bacteriano

- Se flameó el asa en la llama del mechero hasta que se torne roja, esperando a que se enfrié.
- Se colocó una gota de solución fisiológica estéril en un portaobjetos
- Se tomó una colonia del medio en el que se presentó desarrollo bacteriano.
- Se agregó la muestra bacteriana a la gota de solución fisiológica y se procedió a homogenizar suavemente.
- Se esperó a que se seque al ambiente o se usó la llama del mechero. (Aquiahuati, M., 2004 http://www.uamenlinea.uam.mx/materiales/licenciatura/diversos/AQUIAHUATL_RAMOS_MARIA_DE_LOS_ANGELES_Manual_de_practicas_de.pdf)

Coloración Gram

Con la muestra ya fijada mediante un frotis, se garantizó que esta no se desprenda de la placa facilitando su tinción. (Bailey Y Scott., 2009. <<https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&pg=PR7&lpg=PR7&dq=bailey+y+scott+diagnostico+micr>>)

Cuadro 6-2: Esquema Tinción Gram

Solución	Tiempo de aplicación	Bacterias Gram positivas	Bacterias Gram negativas
Colorante: Cristal violeta	1 minuto	Violeta	Violeta
ENJUAGAR			
Mordiente: Lugol	1 minuto	Violeta	Violeta
ENJUAGAR			
Decolorante: Alcohol acetona	30 segundos	Violeta	Incolora
ENJUAGAR			
Colorante de contraste: Safranina	1 minuto	Violeta	Rosadas
ENJUAGAR			

Fuente: Bailey y Scott, Diagnóstico Microbiológico.

Elaborado por: Pérez Gabriela, 2016

Prueba de la Oxidasa

- Se colocó agua estéril en la tira reactiva OxiStrips™ para humedecerla.
- Se agregó con el asa una colonia previamente aislada, sin saturar la tira.
- Se esperó 30 segundos y se observó el cambio de color en caso de resultado POSITIVO.

(Hyserve GmbH CO. kg., <http://hyserve.de/files/CompactDry_ES.pdf>)

Prueba de la Catalasa

- Se colocó en el portaobjetos una gota de agua oxigenada.
- Se tomó una colonia aislada de bacterias y se la incluyó en el agua oxigenada.
- Si burbujea la prueba es de resultado POSITIVO. (Bou,G.,et all. 2010 <<http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>>)

Sistema de Identificación MICROGEN™ GnA+B

Procedimiento - Inoculación e Incubaciones

1. Se hizo un test de oxidasa del organismo aislado ya que en el caso de organismos oxidasa positivos solo se pueden identificar inoculando tanto las tiras del GN A como GN B.
2. Se emulsificó una única colonia obtenida de un cultivo de 18-24 horas en 3 mL de solución salina estéril 0.85% para la tira GN A, en el caso de inocular ambas tiras, GN A y GN B, la colonia se emulsificó en 3-5mL de solución salina estéril 0.85%, y se mezcló bien.
3. Se retiró la lámina adhesiva que sellaba los pocillos sin desechar la tira adhesiva, que a posterior se volvió a necesitar.
4. Usando una pipeta pasteur estéril, o puntas plásticas estériles se añadió de 3-4 gotas (aproximadamente 100µL) de la suspensión bacteriana a cada pocillo de la tira(s).
6. Después de la inoculación, se agregó los pocillos 1,2 y 3 (numerar la tira GN A empezando por el final de la etiqueta) y pocillos 20 y 24 (tira GN B – el pocillo 13 es al final de la etiqueta) con 3-4 gotas de aceite mineral. En el caso que el organismo aislado sea oxidasa positivo no se añade aceite en el pocillo 20. Estos pocillos están marcados con un círculo Negro alrededor para facilitar su identificación.
7. Se selló la parte superior de la tira con la cinta adhesiva que se había retirado antes y se incubó a 35°C. Asegurándose que los “agujeros” de la cinta adhesiva están sobre los pocillos 7, 11 y 12 en la tira GN A y sobre el pocillo 14 en la tira GN B.
8. Las tiras GN A t GN B se leyeron después de 18-24 horas de incubación para las *Enterobacteriaceae*, y tras 48 horas para los microorganismos aislados oxidasa positivos. (Microgen Bioproducts Ltd., <<http://www.medica-tec.com/arg/files/MICROGEN-GN-ID-MID65%20y%20MID641.pdf>>

Procedimiento – Lectura y adición de Reactivos

Tira GN A

1. Se quitó la cinta adhesiva y se anotó todas las reacciones positivas con la ayuda de la carta de color. Anotar los resultados en la hoja de resultados proporcionada.
2. Se añadió los reactivos apropiados a los siguientes micro pocillos:

a) Añadió 2 gotas de reactivo Kovac's al pocillo 8. Se leyó y anotó los resultados después de 60 segundos. La formación de color rojo indicaba un resultado positivo.

b) Añadió 1 gota del reactivo VP I y 1 gota del reactivo VP II al pocillo 10 y se leyó y anotó los resultados tras 15-30 minutos. Si se formaba un color rosa / rojo indica un resultado positivo.

c) Añadió 1 gota del reactivo TDA al pocillo 12 y se leyó después de 60 segundos. La formación de un color rojo cereza indica un resultado positivo.

3. Se hizo el test de reducción de nitrato al pocillo 7 después se leyó y anotó el resultado del test ONPG. Se añadió 1 gota del reactivo Nitrato A y una gota del reactivo Nitrato B al pocillo y se leyó después de 60 segundos.

El desarrollo de color rojo indica que el nitrato ha sido reducido a nitrito. Si el pocillo 7 se mantiene amarillo o incoloro después de la adición del reactivo nitrato, se debió añadir una pequeña cantidad de polvo de zinc. Esto indicará si el nitrato ha sido completamente reducido a nitrógeno gas.

4. Anotó estos resultados adicionales en la hoja de resultados proporcionada. (Microgen Bioproducts Ltd., <<http://www.medica-tec.com/arg/files/MICROGEN-GN-ID-MID65%20y%20MID641.pdf>>)

Tira GN B

1. Se retira la cinta adhesiva y se anotó todas las reacciones positivas con la ayuda de la carta de color. Se anotó los resultados en la hoja de resultados.

2. Se leyó los pocillos específicos según se indica:

a) El pocillo de gelatina 13 se debe leer tras 18-24 horas para Enterobacteriaceae y tras 48 horas para los aislados oxidasa positivos. Si se observan partículas negras a través del pocillo es indicativo de un resultado positivo de licuefacción de la gelatina.

b) El pocillo de la arginina se interpreta diferente tras 24 y 48 horas de incubación:

24 Horas (Enterobacteriaceae)

- Amarillo = Negativo
- Verde/Azul = Positivo

48 horas (Organismos Oxidasa positivos)

- Amarillo / verde = Negativo
- Azul = Positivo

Identificación

En la hoja de resultados de Microgen GN-ID A+B, los substratos se han organizado en tripletes (sets de 3 reacciones) y se ha asignado un valor numérico a cada substrato (1, 2 o 4). La suma de las reacciones positivas para cada triplete da lugar a un único dígito, el perfil numérico, que se utilizará para determinar la identidad del organismo aislado. El Perfil numérico se introduce en el Software Microgen Identification System (MID-60), que genera un informe de los cinco microorganismos más parecidos en una base de datos selectiva. El software proporciona una identificación basada en probabilidad, en % de probabilidad y en el parecido con un análisis de la calidad de la diferenciación. (Microgen Bioproducts Ltd., <<http://www.medica-tec.com/arg/files/MICROGEN-GN-ID-MID65%20y%20MID641.pdf>>

MICROGEN GN-ID A+B PANEL REPORT FORM																											
Lab. No. <i>3341</i>		Specimen Type: <i>CHEESE SANDWICH</i>																									
		Date: <i>28TH JANUARY 2002</i>																									
Well Number				GN A wells												GN B wells											
Reaction	Oxidase	Motility	Nitrate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
				Lysine	Ornithine	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V.P.	Citrate	TDA	Gelatin	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine
Result				+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Reaction Index	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum of Positive Reactions				6			7			6			0			0			7			6			0		
Profile No:	<i>67600760</i>										Final Identification: <i>E. coli</i>																

WF6125/01/02

Figura 2-2: Hoja de resultados

Fuente: MICROGEN BIOPRODUCTS LTD, Microgen™ GN-ID Identificación

CAPÍTULO III.

3. MARCO DE RESULTADOS, ANALISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En base a los objetivos planteados, durante la investigación se obtuvieron los siguientes resultados:

Tablas 1-3: Cantidad de bacterias aerobios mesófilos presente en las superficies en los quirófanos del Hospital de Riobamba

LUGAR DE PROCEDENCIA	MUESTREO 1 (UFC/cm ²)	MUESTREO 2 (UFC/ cm ²)
QUIRÓFANO N. 1		
Mesa de anestesia	0	0.27
Mesa Quirúrgica	0	0.29
Paredes	0.01	0.07
Teléfono	0.04	0
QUIRÓFANO N. 3		
Lámpara cielítica	0	0
Mesa quirúrgica	0	0.06
Mesa de anestesia	0	0
Pinzas estériles	0	0
Rejilla de aire	0.38	0.60
QUIRÓFANO N. 4		
Mesa de anestesia	0	0.04
Mesa quirúrgica	0	0
Pre lavabo	0	0.16
Tambores de material estéril	0	0.03
Paredes	0	0
QUIRÓFANO N.5		
Balanza neonatal	0.17	0.15

Mesa semilunar de instrumentación	0.03	0.11
Mesa Quirúrgica	0	0
Mesa de anestesia	0.05	0.07
SALA DE RECUPERACIÓN		
Mesa de preparación de medicamentos	0.05	0.03
Estación de enfermería	0.16	0.24
Camilla pacientes	0	0.15

Realizado por: Pérez Gabriela, 2016.

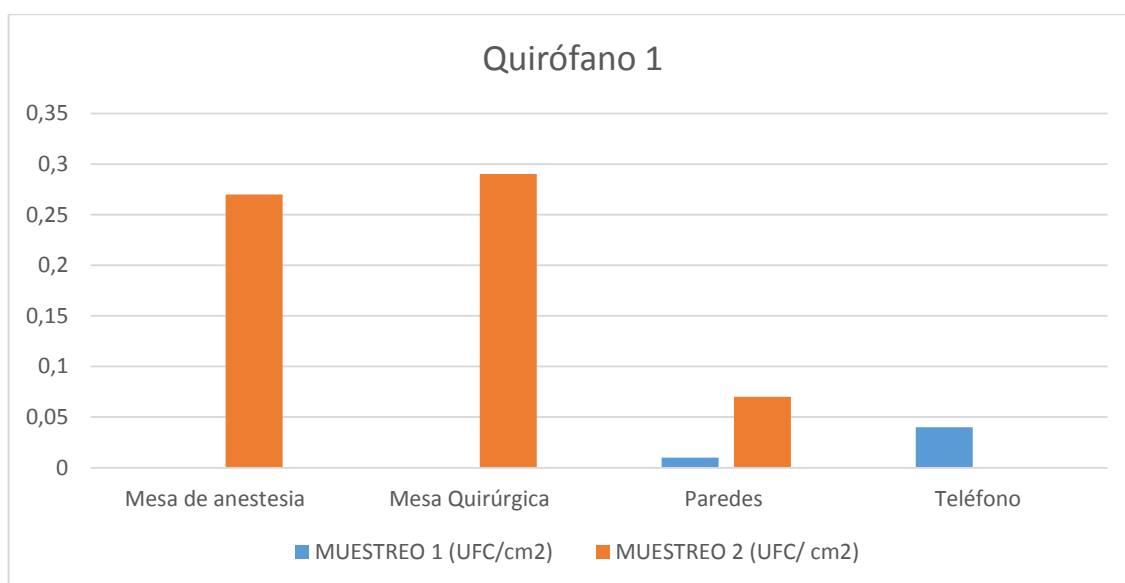


Gráfico 1-3: Comparación entre el Primer y Segundo muestreo en el Quirófano 1

Realizado por: Pérez Gabriela, 2016.

En las superficies muestreadas del Quirófano N.1 se evidencia mayoritariamente la presencia de microorganismos en la mesa quirúrgica con un 42.6 % del total de la población microbiana, y en lugares como la mesa de anestesia presenta un 39.7 % de la misma, tanto paredes como las zona de teléfono presenta una menor cantidad de microorganismos. (Ver Cuadro 4-3)

La contaminación originada en la mesa quirúrgica y en la mesa de anestesia puede deberse a la concentración del personal en el área o la falta de cuidado al limpiar entre una cirugía y otra. Sin embargo ninguna de las superficies muestreadas presenta un valor mayor al referido en la norma UNE EN ISO 14698.

Al comparar los resultados expuestos en esta investigación con datos obtenidos en un estudio acerca del control bacteriológico en salas de operación realizado por la Dra. Teresa Ferrutino en el Hospital público Obrero, muestra resultados similares, ya que los datos reportados del

crecimiento bacteriano con salas limpias antes de cualquier intervención quirúrgica son mínimos. (Ferrutino, T., 2008. <<http://www.ops.org.bo/textocompleto/facmed/chc1971187608.pdf>>)

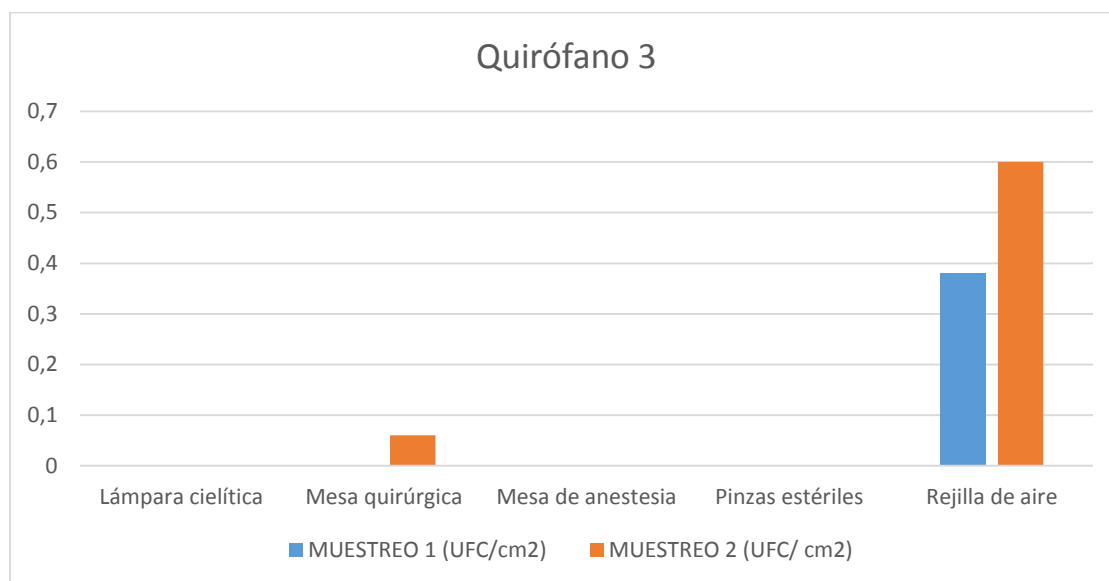


Gráfico 2-3: Comparación entre el Primer y Segundo muestreo en el Quirófano 3
Realizado por: Pérez Gabriela, 2016.

Los resultados obtenidos en los muestreos realizados en el Quirófano 3 exhibe la presencia de microorganismos mayoritariamente en la zona de la rejilla de aire con un 94.2 % del total de microorganismos cuantificados, en los lugares restantes no se encontró microorganismos. (Ver Cuadro 4-3).

Se podría decir que la contaminación encontrada en esta superficie es debido a que el personal encargado de la limpieza únicamente limpia las áreas que mayor contacto tienen con el paciente y los trabajadores de la salud, sin tomar en cuenta que desde estos lugares pueden originarse bioaerosoles capaces de contaminar otras superficies una vez terminado el proceso de limpieza.

Al comparar esta investigación con una publicación de la revista Scielo, realizada en la Universidad de Los Andes, Venezuela, por María Zambrano, podemos decir que obtenemos resultados similares ya que los datos obtenidos del quirófano muestreado representan un 24.4 % de la carga microbiana procedente de la rejilla del aire, en el caso de esta investigación el 94.2 % de la contaminación procede del mismo lugar, a pesar de ello no es una concentración microbiana que exceda los valores descritos en la norma UNE EN ISO 14698. (Zambrano, M., 2007. <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652007000200005>)

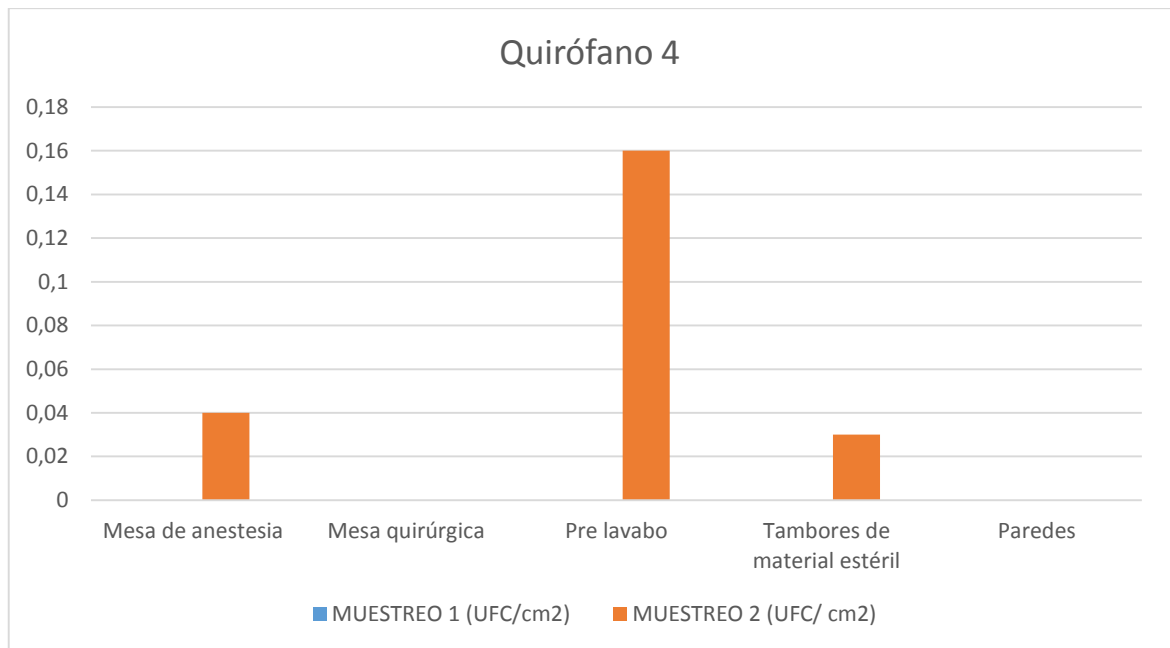


Gráfico 3-3: Comparación entre el Primer y Segundo muestreo en el Quirófano 4

Realizado por: Pérez Gabriela, 2016.

En las superficies del Quirófano N. 4 un 14.81% de la población microbiana se encontró en la mesa de anestesia, y un 59.25 % de la población microbiana pertenece a la zona de pre lavado, mientras que los tambores de material estéril alberga un 7.14 % de microorganismos. (Ver Cuadro 4-3).

La presencia mayoritaria de microorganismos en el área del lavabo, puede deberse a que en este lugar existen condiciones de humedad que puede favorecer el crecimiento bacteriano, en los tambores de material estéril también se presenta crecimiento debido a la manipulación de estos objetos y a la falta de cuidado en la limpieza después del uso de cada sala quirúrgica, principalmente entre cirujías.

Al comparar nuestros resultados con los obtenidos en una investigación realizada en Costa Rica en un Hospital Nacional en el año 2007 realizado por Evelin Rodríguez, se puede decir que los datos obtenidos son similares ya que en el estudio antes mencionado se muestra un mayor crecimiento en el área del lavamanos, debido a las condiciones propias del área. (Rodríguez, E., 2007 <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/1055/1/28632.pdf>)

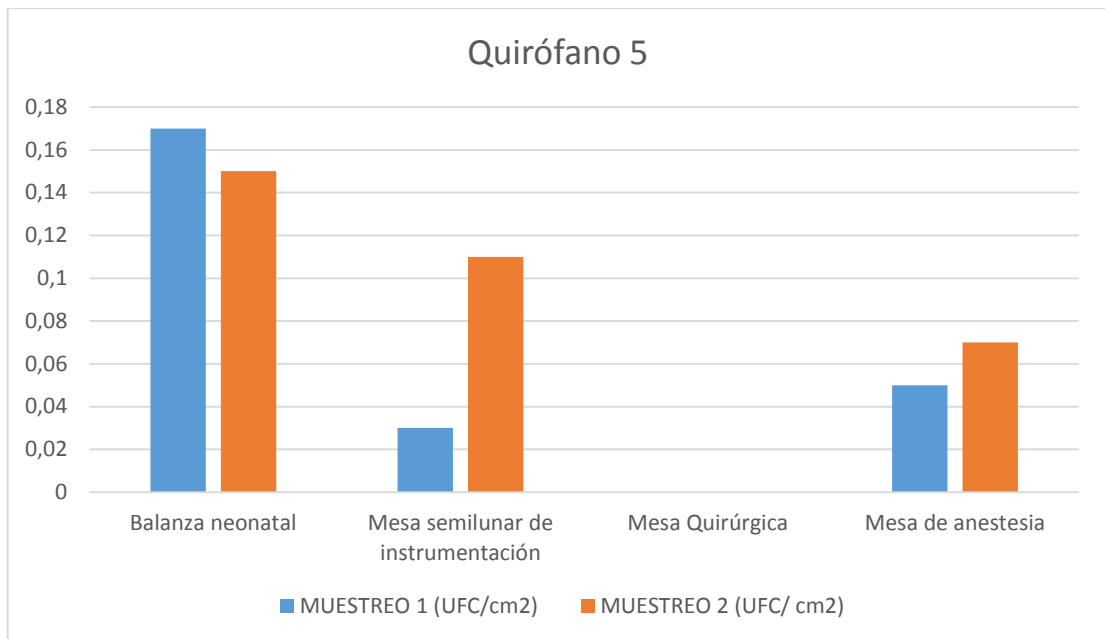


Gráfico 4-3: Comparación entre el Primer y Segundo muestreo en el Quirófano 5
Realizado por: Pérez Gabriela, 2016.

En el Quirófano N.5 se muestra un 55.17 % de microorganismos presentes en la balanza neonatal, mientras que la mesa de instrumentación y la mesa de anestesia presentan un 24.13% y 20.68% respectivamente de microorganismos aislados, en los dos muestreos realizados el lugar con mayor presencia de microorganismos es la balanza neonatal. (Ver Cuadro 4-3).

El crecimiento bacteriano en estas zonas posiblemente se deba a que la limpieza no es minuciosa, o a que los desinfectantes y bactericidas usados no están dando el efecto esperado, o a que la concentración de los mismos no es la adecuada, punto que debe ser tomado en cuenta ya que si en esta sala se atienden partos y se utiliza estos instrumentos puede ser un reservorio de bacterias que pueden estar implicadas en el desarrollo de infecciones nosocomiales en bebés.

Comparando nuestros resultados con los de un estudio realizado en el Hospital General Universitario Vladimir Ilch , realizado por María Cordobés se puede decir que obtienen resultados similares a los descritos en esta investigación ya que aunque no existe un crecimiento mayor al de lo expuesto por la norma, si se muestra crecimiento bacteriano. (Cordovés, M, 2009 < <http://www.cocmed.sld.cu/no154/pdf/ori04.pdf> >)

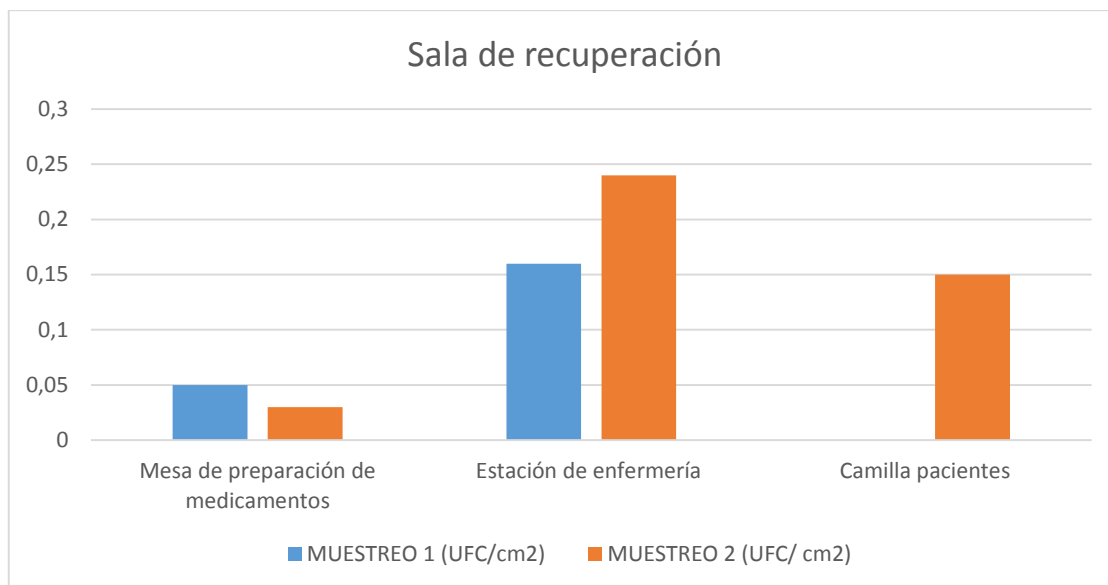


Gráfico 5-3: Comparación entre el Primer y Segundo muestreo en la Sala de Recuperación
Realizado por: Pérez Gabriela, 2016.

Como se muestra en la figura, la población microbiana es mayor en la superficie de la estación de enfermería siendo un 63,49 % del total, esto posiblemente puede deberse a que a este lugar llega el personal en primera instancia y es un área no estéril, teniéndose en cuenta de que en este lugar también debería tomarse medidas de limpieza estrictas ya que a esta instalación llegan los pacientes después de una intervención quirúrgica y pueden ser fáciles huéspedes de cualquier microorganismo oportunista. (Ver Cuadro 4-3).

Tablas 2-3: Cuantificación de bacterias aerobios mesófilos en los quirófanos del Hospital de Riobamba (muestreo aire)

COMPACT DRY	MUESTRO 1 UFC/cm2/ min.	MUESTRO 2 UFC/cm2/ min.
QUIRÓFANO N. 1		
CF	0	0
TC	0	0
YM	0	0
QUIRÓFANO N. 3		
CF	0	0
TC	0	0
YM	0	0
QUIRÓFANO N. 4		

CF	0	0
TC	2.5×10^{-3}	2.5×10^{-3}
YM	0	0
QUIRÓFANO N. 5		
CF	0	0
TC	0	0
YM	0	0

Realizado por: Pérez Gabriela, 2016.

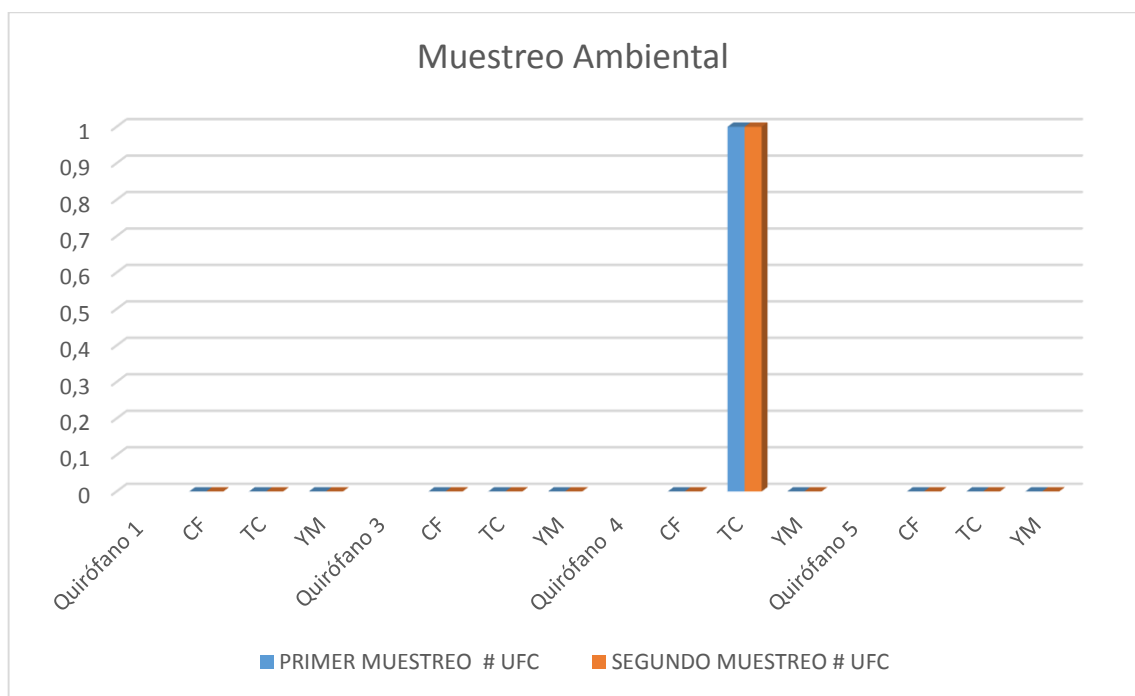


Gráfico 6-3: Carga microbiana en el ambiente.

Realizado por: Pérez Gabriela, 2016.

En las muestras tomadas del aire por el método de sedimentación, se encontró únicamente presencia de microorganismos en el Quirófano N.4, y el 100% del crecimiento se reportó en placas de Cuenta Total de microorganismos, obteniendo como resultado del muestreo 2.5×10^{-3} UFC/cm²/min. (Ver Cuadro 5-3).

Aunque se reporta crecimiento, este es mínimo por lo que no excede los niveles descritos en la norma.

Tablas 3-3: Frecuencia de aislamiento de especies bacterianas en superficies y ambientes de las áreas quirúrgicas.

Microorganismos Identificados	Frecuencia
<i>Staphylococcus spp</i> *	64%
<i>Escherichia coli</i> *	25%
<i>Hafnia alvei</i> *	3 %
<i>Burkholderia pseudomallei</i> *	4%
<i>Citrobacter freundii</i> **	4%

(*Bacterias aisladas de superficies, ** Bacterias aisladas del aire);

Realizado por: Pérez Gabriela, 2016

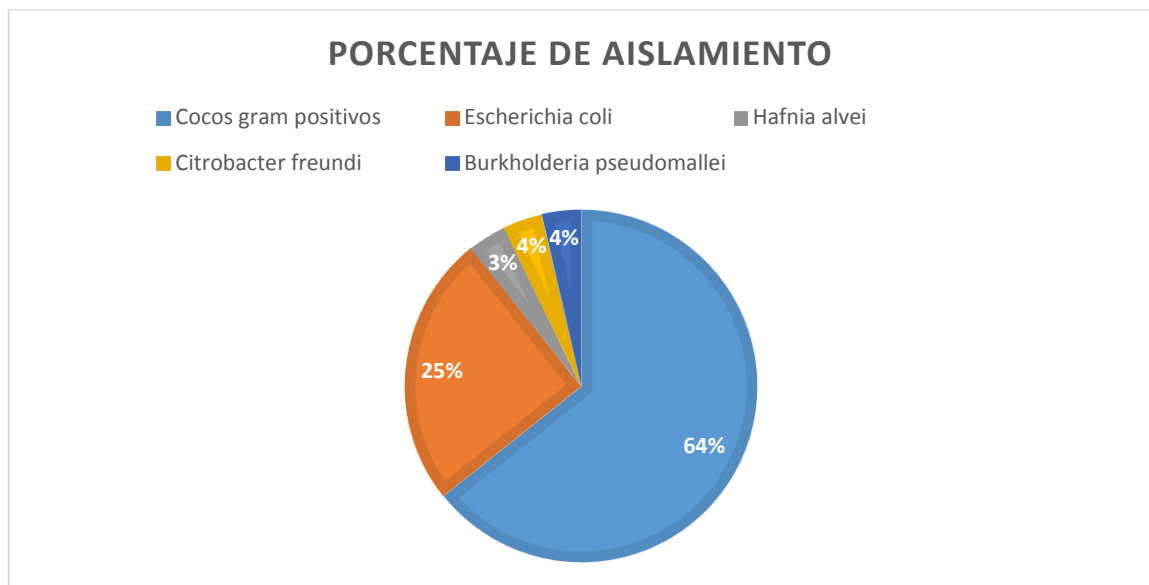


Gráfico 7-3: Identificación de microorganismos aislados

Realizado por: Pérez Gabriela, 2016

Se aisló principalmente bacterias de tipo *Staphylococcus spp* con una frecuencia del 64% ,también se reporta la presencia de *Escherichia coli* en las superficies de los quirófanos con una frecuencia del 25%, otros tipos de bacteria se aislaron con una menor frecuencia es el caso de *Burkholderia pseudomallei* aislada en un 4 % que es una bacteria gram negativa aerobia, causante de la melioidosis, según un estudio publicado por la revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera de Costa Rica, se reportó el aislamiento de este microorganismo que presenta una infección de amplio espectro, y puede reportar tanto casos asintomáticos con infecciones fulminantes con una mortalidad de hasta el 90% , ataca principalmente a órganos del sistema retículo endotelial y puede producir abscesos en la piel, articulaciones y huesos ,se han descrito casos de esta enfermedad en Ecuador y en Panamá con una alta tasa de mortalidad, sin

embargo son muy escasos los reportes de este microorganismo fuera de su lugar de hábitat; en el caso de la bacteria *Hafnia alvei* que se encontró con una frecuencia de 3%, es una bacteria gram negativa de la familia *Enterobacteriaceae*, en el ser humano ha sido identificado como especie entérica, este agente se comporta como patógeno oportunista poco común, que puede causar infecciones nosocomiales, incluyendo gastroenteritis, bacteriemia, neumonía, meningitis, infección de herida operatoria, endoftalmitis y absceso glúteo, en una investigación realizada por Caludia Moreno describe el reporte de 4 casos clínicos de bacteriemia por *Hafnia alvei* en una unidad cardio-quirúrgica pediátrica, dos de los casos reportaron el foco infeccioso asociado principalmente al catéter venoso central, mientras los 2 casos restantes no tuvieron foco infeccioso conocido.

Se reportó también la presencia de *Citrobacter freundii* en un 4% que es un bacilo gram negativo de tipo entérico, oportunista capaz de producir infecciones de tipo nosocomial del tracto respiratorio y urinario, aislado de manera frecuente en pacientes que han permanecido un largo periodo de tiempo en el hospital, este microorganismo en la presente investigación se aisló del aire del quirófano 4, en un caso clínico publicado por Camilo Eslava y colaboradores se reportó el aislamiento de esta bacteria en una paciente de 61 años de edad sometida a una cirugía facial

Tablas 4-3: Cuantificación de bacterias aerobias mesófilas en las superficies de distintas áreas quirúrgicas.

Área	UFC/cm ²
Quirófano N.1	0.68
Quirófano N. 3	1.04
Quirófano N. 4	0.23
Quirófano N. 5	0.58
Sala de recuperación	0.63

Realizado por: Pérez Gabriela, 2016

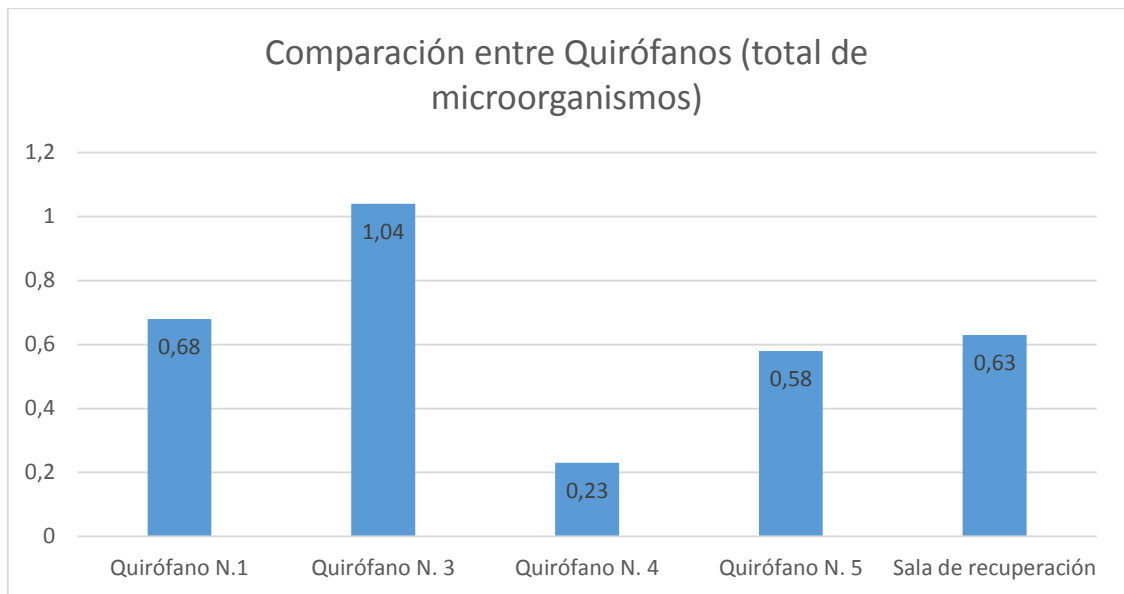


Gráfico 8-3: Comparación entre Quirófanos, cuenta total de UFC.
Realizado por: Pérez Gabriela, 2016

En la sala quirúrgica N.3 se reportó la mayor cantidad de microorganismos representando un 40.31% del total de la microbiota hallada en todos los quirófanos, a pesar de que se reporta crecimiento bacteriano en todas las salas a nivel de superficies, ninguno de los resultados excede el establecido por la norma. (Ver Cuadro 7-3)

Como ya se recaló anteriormente, el crecimiento bacteriano en las superficies posiblemente puede deberse a la misma actividad del personal dentro de las áreas, y la falta de minuciosidad en el momento de limpiar las salas entre cirugías, o a que los desinfectantes y bactericidas no están cumpliendo con el propósito establecido.

Cuadro 1-3: Características morfotintoriales, bioquímicas y lugar de procedencia de la microbiota bacteriana aislada.

SUPERFICIES	PRUEBAS (1er Muestreo)			PRUEBAS (2do Muestreo)		
	Catalasa	Oxidasa	GRAM	Catalasa	Oxidasa	GRAM
Quirófano 1						
Mesa de Anestesia	ND	ND	ND	+	-	Cocos + y , Bacilos -
Mesa Quirúrgica	ND	ND	ND	+	-	Cocos +
Paredes	+	-	Cocos +	+	-	Cocos +
Teléfono	-	-	Cocos +	ND	ND	ND
Quirófano 3						
Lámpara ciélfica	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Mesa quirúrgica	ND	ND	ND	+	-	Cocos +
Mesa de anestesia	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pinzas estériles	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Rejilla de aire	+	-	Cocos +	+	-	Cocos +
Quirófano 4						
Mesa de anestesia	ND	ND	ND	+	-	Cocos +
Mesa quirúrgica	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pre lavabo	ND	ND	ND	+	+	Bacilos -
Tambores de material estéril	ND	ND	ND	+	-	Cocos + Bacilos -
Paredes	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Quirófano 5						
Balanza neonatal	+	-	Cocos +	+	-	Cocos + y bacilos -
Mesa semilunar de instrumentación	+	-	Cocos +	+	+	Cocos + y Bacilos -
Mesa Quirúrgica	ND	ND	N	ND	ND	ND
Mesa de Anestesia	+	-	Cocos +	+	-	Bacilos -
Sala de recuperación						
Mesa de preparación de medicamentos	+	-	Cocos +	+	-	Cocos +

Estación de enfermería	+	-	Cocos +	+	-	bacilos - , Cocos +
Camilla pacientes	ND	ND	ND	+	-	Cocos +
Muestreo Ambiental	1er Muestreo			2do Muestreo		
	Catalasa	Oxidasa	Gram	Catalasa	Oxidasa	Gram
Quirófano 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Quirófano 3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Quirófano 4	+	-	Bacilos -	+	-	Bacilos -
Quirófano 5	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Realizado por: Pérez Gabriela, 2016

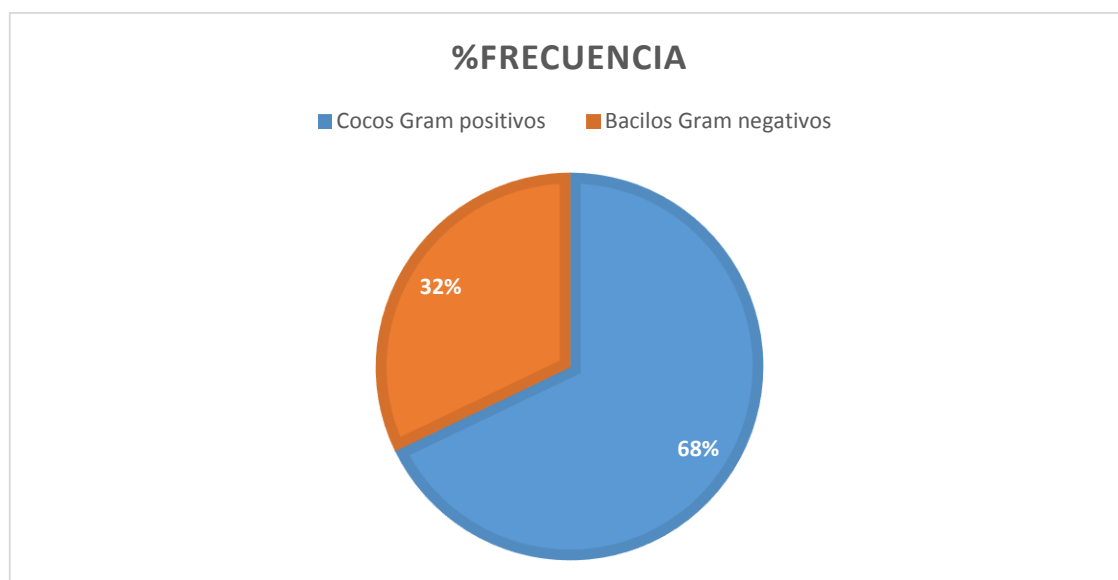


Gráfico 9-3: Morfología de los microorganismos aislados

Realizado por: Pérez Gabriela, 2016

Se recuperaron bacterias con diferentes características morfológicas, como muestra la figura los microorganismos Gram positivos representan el 68% del total de población bacteriana, estos microorganismos aislados, que son aquellos correspondientes a la microbiota normal humana, es decir provienen de las personas que se desenvuelven en las áreas muestreadas, seguido de la presencia de bacilos Gram negativos en un 32 % procedentes de lugares húmedos como lavabos. (Ver Cuadro 8-3).

Según un estudio publicado por la OPS de la autoría de Enrique Calderón titulado “Investigación de reservorios ambientales de bacterias causantes de infecciones hospitalarias”, muestra que la mayoría de microorganismos aislados en áreas críticas fueron cocos Gram positivos aislados de

superficies secas, seguido de bacilos Gram negativos recuperados de áreas húmedas; de esta forma podemos decir que los resultados recogidos en esta investigación se corroboran con los expuestos por los encontrados en bibliografía.

CONCLUSIONES

En la presente investigación realizada a los 4 quirófanos principales del Hospital de Riobamba, se pudo determinar que:

- Los 4 quirófanos evaluados presentaron una carga microbiana en superficies de 0.68, 1.04, 0.23, 0.58 UFC/cm² en cada sala respectivamente, y en la sala de recuperación se presentó una concentración microbiana de 0.63 de microorganismos aerobios, en cuanto a la evaluación del aire únicamente se reportó crecimiento bacteriano en el Quirófano 4 con una carga microbiana de 2.54×10^{-3} UFC/cm²/min, y en ningún caso se confirmó la presencia de hongos, en el caso de bacterias existe una carga menor de lo que establece la norma.
- Los microorganismos identificados más frecuentes son: *Staphylococcus spp* en un 64% *Escherichia coli* en un 25%, *Hafnia alvei*, en un 3% *Citrobacter freundii* 4% *Burkholderia pseudomallei* en un 4 %.
- Las diferencias o similitudes entre muestreos es normal por la variación de la rutina de uso del quirófano, así como por la presencia de personal auxiliar o pacientes en mayor o menor grado y las condiciones ambientales del mismo, ya que la demanda de los pacientes en estos centros de atención es alta impide que se realice un aseo adecuado entre una cirugía y otra.
- Los hallazgos sugieren como posible fuente de infección de estos ambientes a los pacientes, el personal del quirófano y el sistema de aire acondicionado, siendo este último capaz de introducir partículas infecciosas directamente del ambiente exterior.
- El manejo de un solo agente desinfectante y las concentraciones podría no ser el más adecuado debido a la tolerancia y/o adaptabilidad que desarrollan las bacterias frente a los efectos bactericidas. Esto puede ser una de las razones por las que existe una contaminación de las áreas evaluadas.

BIBLIOGRAFIA

AGENCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITARIA. Brasil: 2010, pp 18-21. [Consulta: 13 de Enero del 2016]. Disponible en: <http://www.cocemi.com.uy/docs/limpiezahosp_dic2010.pdf>

AQUIAHUATI, M., *Manual de Prácticas Laboratorio de Microbiología General.* [en línea]. Mexico :2004. Preparación, fijación y coloración simple de frotis, pp 20-24. [Consulta: 6 de Enero del 2016]. Disponible en: <http://www.uamenlinea.uam.mx/materiales/licenciatura/diversos/AQUIAHUATL_RAMOS_MARIA_DE_LOS_ANGELES_Manual_de_practicas_de.pdf>

BAILEY Y SCOTT, *Diagnóstico Microbiológico.* [Tipo de documento]. 12º Edición. Buenos Aires – Argentina: Editorial Médica Panamericana, 2009. [Consulta: 20 de Diciembre del 2015]. Disponible en: <<https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&pg=PR7&lpg=PR7&dq=bailey+y+scott+diagnostico+microbiologico&source=bl&ots=2PgZlk8DHk&sig=JC7D8rfgX-i-1fbUym4VrieQ0PQ&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjW1Keq1ubKAhUCYyYKHWwbA2Q6AEIQzAL#v=onepage&q=bailey%20y%20scott%20diagnostico%20microbiologico&f=false>>

BOIXAREU, P., et all. *Guía de Buenas Prácticas para la Seguridad y la Sostenibilidad del Área Quirúrgica.* [en línea]. España: 2012. Ensayos de los parámetros ambientales; Microbiología, pp 30-38. [Consulta: 28 de Diciembre del 2015]. Disponible en: <http://www.gencat.cat/salut/html/ca/dir3662/guia_sostenibilitat_quirofans_vcaste.pdf>

BOU, G., et all. “Métodos de identificación bacteriana en el Laboratorio de Microbiología”. *Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica* [en línea], 2011, (España) 29 (08), pp.4-6. [Consulta: 26 de Diciembre del 2016]. Disponible en: <<http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-metodos-identificacion-bacteriana-el-laboratorio-90027188#elsevierItemBibliografias>>

BOU, G., et all. “Métodos de identificación bacteriana en el Laboratorio de Microbiología” [en línea]. España: Emilia Cercenado y Rafael Cantón, 2010. Pruebas que se utilizan en la

identificación preliminar y con lectura inmediata, pp. 20-28. [Consulta: 29 de Diciembre del 2016]. Disponible en: <<http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>>

BOUZA, E., et all “Pseudomona aeruginosa: estudio multicentrico en 136 hospitales espaÑoles”. *Revista Española de Quimioterapia* [en línea], 2003, (España) volumen (16), pp. 8-10. [Consulta: 12 de Enero del 2016]. Disponible en: < <http://seq.es/seq/0214-3429/16/1/41.pdf>>

CALDERON, E., *Investigación de reservorios ambientales de bacterias causantes de infecciones hospitalarias* [en línea]. Buenos Aires: 1989. Investigación de reservorios bacterianos en áreas críticas. [Consulta: 14 de Diciembre del 2015]. Disponible en: <http://www.paho.org/arg/publicaciones/pubOPS_ARG/pub28.pdf>

CAORSI , B., et all. “Calidad microbiológica del aire de una unidad de preparados farmacéuticos estériles”. *Revista chilena de infectología* [en línea], 2011, (Chile) volumen (28), pp. 14-18. [Consulta: 22 de Diciembre del 2015] Número ISSN 0716-1018. Disponible en: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182011000100003>

COBOS, J. *Gestión de la calidad del aire en el Hospital Universitario de Guadalajara y su implicación en la infección hospitalaria* [en línea]. Guadalajara: Septiembre 2008. [Consulta: 14 de Diciembre del 2015]. Disponible en: <http://www.conama9.conama.org/conama9/download/files/CTs/985744_JCobos.pdf>

CORDOVEZ, M., et all. *Determinación de Enterococcus en muestras no clínicas en la sala de Neonatología de Hospital Lenin.* [en línea]. 2009. [Consulta: 17 de Enero del 2016]. Disponible en: < <http://www.cocmed.sld.cu/no154/pdf/ori04.pdf> >

CRUZETA, G., *Salas de ambiente controlado.* [en línea]. España: 2014. [Consulta: 23 de Diciembre del 2015]. Disponible en: <<http://acici.cat/sites/default/files/sessions/2012/cat/ambientals.pdf>>

DE LA ROSA, M DEL C. “Calidad microbiológica del aire en una industria farmacéutica”. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* [en línea], 2000, (España) volumen (31), pp.3-5. [Consulta: 20 de Diciembre del 2015]. Disponible en: <<http://www.elsevier.es/es->

revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-control-microbiologico-ambiental-90207102>

ELGUETA, A., et all. “Brote de sarna en un hospital terciario a partir de un caso de sarna costrosa”. *Revista chilena de infectología* [en línea], 2007, (Chile) volumen (24), pp. 306-310. [Consulta: 12 de Enero del 2016]. Número ISSN 0716-1018. Disponible en: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S071610182007000400008&lng=es&nrm=iso&tlng=es>

EZPELETA, C. *Control Microbiológico Ambiental* [en línea] España: Emilia Cercenado, Rafael Carrión, 2012. Control Microbiológico del aire: Quirófanos y unidades de inmunodeprimidos. [Consulta: 16 de Diciembre del 2015]. Disponible en: <<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia42.pdf>>

FAARVENT, “Calidad ambiental en hospitales: Quirófanos y Áreas críticas”. 2013. [Consulta: 22 de Diciembre del 2016]. Disponible en: <<http://www.faarvent.com.mx/portfolio/calidad-ambiental-en-hospitales-quirofanos-y-areas-criticas-2/>>

FERRUTINO, T., *Control Bacteriológico en salas de operación* [en línea]. Perú, 2008. [Consulta: 21 de Enero del 2016]. Disponible en: <<http://www.ops.org.bo/textocompleto/facmed/chc1971187608.pdf>>

FIGUEROLA A., et all. "Vigilancia Preventiva de la Biocontaminación Ambiental en Hospitales. " *Revista de calidad ambiental interior en hospitales y salas de ambiente controlado*, vol. 7, (2011), (España) pp. 26- 34. [Consulta: 12 de Enero del 2016]. Disponible en: < <https://es.scribd.com/doc/236273072/Revista-Biotecnologia-Hospitalaria-Num-7#scribd>>

GONZALEZ R, C., et al. “Brote por *Klebsiella pneumoniae* multiresistente y productora de β -lactamasa de espectro extendido en una unidad de alto riesgo neonatal”. *Revista chilena de infectología* [en línea], 2011, (Chile) volumen (28), pp. 28-34. [Consulta: 5 de Enero del 2016]. Número ISSN 0716-1018. Disponible en: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716_10182011000100005&lng=es&nrm=iso>

HARDY DIAGNOSTICS., *Oxidase Strips. Manual Técnico.* [en línea]. [Consulta: 04 de Enero del 2016]. Disponible en: <https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/Content/hugo/OxiStripsOxisticks.htm>

HYSERVE GMBH CO. KG., *Manual Métodos de detección de microorganismos.* [en línea]. Alemania. [Consulta: 30 de Diciembre del 2016]. Disponible en: <http://hyserve.de/files/CompactDry_ES.pdf>

IZZEDDIN Y COLABORADORES. “Evaluación de bioaerosoles en ambientes de centros de salud de la ciudad de Valencia”. *Kasmera* [en línea], 2011, (Venezuela) volumen (39) n. 1, pp. 59-67. [Consulta: 22 de Diciembre del 2016]. ISSN 0075-5222. Disponible en:http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S007552222011000100008&lng=es&nrm=iso

LEY ORGÁNICA DE LA SALUD. Publicada en el Registro Oficial Suplemento # 423. Fecha 22-12-2006. Disponible en: http://www.cicad.oas.org/fortalecimiento_institucional/legislations/PDF/EC/leyorganica_de_salud.pdf

MAIMONE, S., *Infeción Hospitalaria.* [en línea]. Octubre 2005. [Consulta: 15 de Diciembre del 2015]. Disponible en: <<http://www.codeinep.org/INFECCION%20HOSPITALARIA.pdf>>

MICROGEN BIOPRODUCTS LTD., *Microgen™ GN-ID Identificación* [en línea]. [Consulta: 04 de Enero del 2016]. Disponible en: <<http://www.medica-tec.com/arg/files/MICROGEN-GN-ID-MID65%20y%20MID641.pdf>>

MURRAY, P., et all. *Microbiología Médica*. 6^{ta} edición. Barcelona-España: GI Consultoria, 2009, [Consulta: 11 de Enero del 2016]. Disponible en: <<http://es.slideshare.net/diegomuniozz/microbiologia-murray-6-edicion>>

OMS. *Informe sobre la Salud en el Mundo* [en línea]. Francia: 2003. [Consulta: 20 de Diciembre del 2015]. Disponible en: <http://www.who.int/whr/2003/en/whr03_es.pdf>

ORTIZ, G. “*Calidad microbiológica en ambientes interiores*” [en línea] ,2007. [Consulta: 16 de Diciembre del 2015]. Disponible en: <<http://pdfs.wke.es/8/5/6/1/pd0000018561.pdf>>

PEREZ, J., et all. “Mortalidad e infecciones nosocomiales en dos unidades de cuidados intensivos de la ciudad de Barranquilla (Colombia)”. *Revista Científica Salud Uninorte* [en línea], 2012, (Colombia) volumen (24), pp. 13-22. [Consulta: 15 de Enero del 2016]. Disponible en: <<http://rcientificas.uninorte.edu.co/index.php/salud/article/viewArticle/3820>>

PÍREZ, M., *Morfología y estructura bacteriana*. [en línea],[Consulta:8 de Enero del 2016]. Disponible en: <<http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/MorfologiayEstructuraBacteriana.pdf>>

RIVERA-JACINTO, M., et all. “Susceptibilidad a betalactámicos y resistencia por betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en Enterobacteriaceae aisladas de reservorios ambientales de un hospital general en Cajamarca, Perú.”. *Rev Med Hered* [en línea], 2011, (Perú) volumen (22), pp. 69-75. [Consulta: 21 de Enero del 2015]. Número ISSN 1018-130X. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1018-130X2011000200005&script=sci_arttext >

RODRIGUEZ, E., *Evaluación Microbiológica del ambiente en la sección de emergencias quirúrgicas de un Hospital Nacional*. [en línea]. (Tesis pregrado). Universidad de Costa Rica, Facultad de Microbiología, Lugar (Ciudad Universitaria Rodrigo Facio-Costa Rica). 2007. 58 – 72 [Consulta: 21 de Enero del 2016]. Disponible en: <<http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/1055/1/28632.pdf>>

RODRIGUEZ, N., *Monitoreo microbiológico del aire, superficies y manos del personal asistencial en entidades de salud*. [en línea]. (Tesis pregrado).Universidad del Rosario, Facultad de Medicina, Especialización en Epidemiología. Departamento del Meta (Bogotá-Colombia). 2007. pp 38 –42.[Consulta: 19 de Diciembre del 2015].Disponible

en:<http://repository.urosario.edu.co/bitstream/handle/10336/1309/Anexo%201.pdf?sequence=8>

SCHARLAB., *Control Microbiológico ambiental y de superficies.* [en línea], 2014. [Consulta: 28 de Diciembre del 2015]. Disponible en: <<http://www.cienytech.com/catalogos/Microbiologia/Controlsup.pdf>>

SOCIEDAD ANDALUZA DE MEDICINA PREVENTIVA Y SALUD PÚBLICA., “*Recomendaciones para la monitorización de la calidad microbiológica del aire en zonas hospitalarias de riesgo*” [en línea]. España: 2014. [Consulta: 19 de Diciembre del 2015]. Disponible en: <<http://www.sociedadandaluzapreventiva.com/wp-content/uploads/2014/09/Borrador-protocolo-bioseguridad-SAMPSP.pdf>>

TEDESCO-MAIULLARI, R., & GUEVARA, A., “Epidemiología molecular de *Klebsiella pneumoniae* productora de β -lactamasas de espectro extendido”. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* [en línea], 2012, (Venezuela) volumen (32), pp.101-106. [Consulta: 22 de Enero del 2016]. Número ISSN 1315-2556. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562012000200005

TORRENS, G., *Muestras Ambientales* [en línea]. Barcelona-España:2007. [Consulta: 13 de Enero del 2016]. Disponible en: <<http://www.acici.cat/sites/default/files/jornades2007/ACICI%202007%20%20Jornada%20I%20LQACICIII.pdf>>

UNE 171330-2:2009. *Calidad ambiental en interiores. Parte 2: Procedimientos de inspección de calidad ambiental interior.*

UNE 171340:2012. *Validación y cualificación de salas de ambiente controlado en hospitales.*

UNE EN-ISO 100713:2005. *Instalaciones de acondicionamiento de aire en hospitales.*

UNE EN-ISO 14644-1:2000. *Salas limpias y locales controlados.*

UNE-EN ISO 14698-1:2004. *Salas limpias y ambientes controlados asociados. Control de la biocontaminación. Parte 1: Principios y métodos generales*

VALENZUELA, M., *Procedimiento Muestreo Microbiológico del Aire* [en línea]. Chile, 2013. [Consulta: 7 de Enero del 2016]. Disponible en: <

http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2011/01/Muestreo%20Microbiol%20de%20Aire.pdf >

VILLAMIL, C., et all. “Incidencia de neumonía asociada a la ventilación mecánica en pacientes con trauma que ingresaron a la unidad de cuidados intensivos en el hospital Militar Central”. *Revista Medicina* [en línea], 2009, (Colombia) volumen (17), pp. 222-230. [Consulta: 14 de Enero del 2016]. Número ISSN 0121-5256. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-52562009000200006>

VILLATORO, M., *Evaluación microbiológica de los desinfectantes utilizados en el área de producción de nutrición parenteral del Departamento de Farmacia Interna del Hospital General San Juan de Dios.* [en línea] (Tesis pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala, Octubre 2009. pp. 37-40 [Consulta: 17 de Diciembre del 2015]. Disponible en:< http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2845.pdf>

ZAMBRANO, M., et all. “Monitoreo bacteriológico de áreas clínicas odontológicas: estudio preliminar de un quirófano.”. *Acta Odontológica Venezuela* [en línea], 2007, (Venezuela) volumen (45), pp.160-165. [Consulta: 20 de Enero del 2016]. Número ISSN 0001-6365. Disponible en: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652007000200005>

ZAMBRANO-GARI, C., LUNA-FONTALVO, J. “Diversidad microbiana presente en el ambiente de la clínica odontológica de la Universidad del Magdalena”. *Intrópica* [en línea], 2013, (Colombia) volumen (número), pp. 61-68. [Consulta: 22 de Diciembre del 2016]. ISSN 2389-7864. Disponible en: <<http://revistas.unimagdalena.edu.co/index.php/intropica/article/view/733>>.

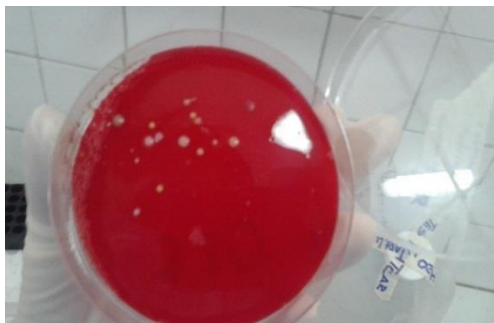
ANEXOS



NEXO A: Muestreo Aire (mesa quirúrgica)



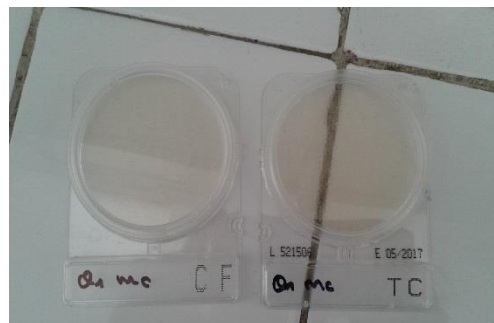
ANEXO B: Incubación de placas



ANEXO C: Resultado del crecimiento bacteriano



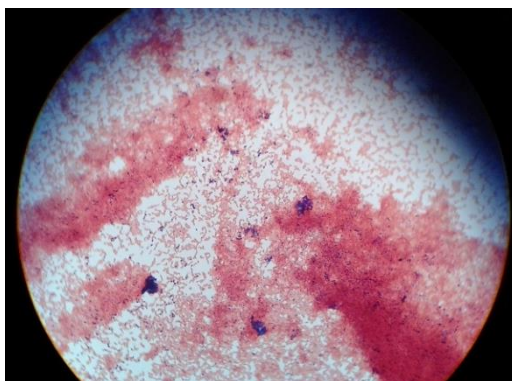
ANEXO D: Crecimiento en placas Compact Dry



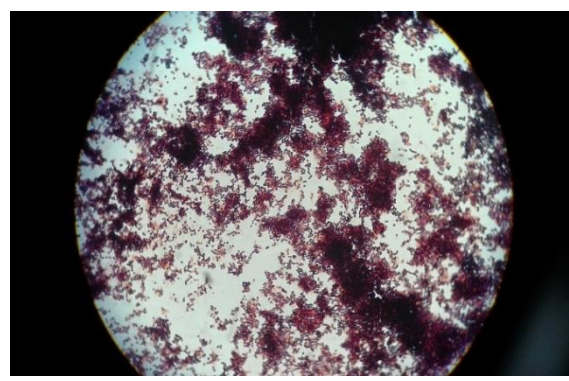
ANEXO E: Crecimiento en placas Compact Dry



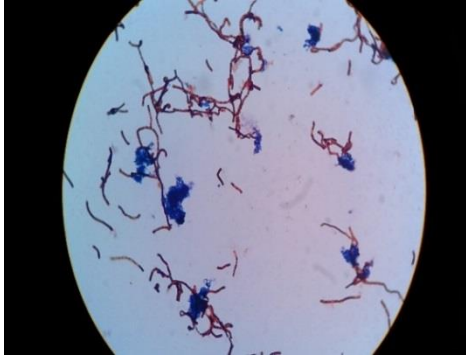
ANEXO F: Prueba Oxidasa



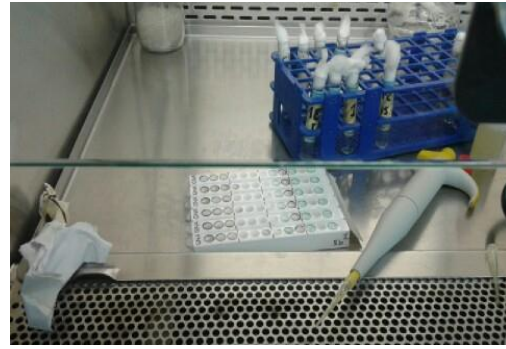
ANEXO G: Coloración Gram



ANEXO H: Coloración Gram



ANEXO I: Coloración Gram



ANEXO J: Identificación Microgen



ANEXO K: Identificación Microgen



ANEXO L: Identificación Microgen