



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**CALIDAD BACTERIOLOGICA DE SUPERFICIES, EQUIPOS,  
AIRE Y RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE PATOGENOS  
GRAM POSITIVOS Y NEGATIVOS DEL SERVICIO DE  
LABORATORIO CLINICO DEL HOSPITAL REGIONAL  
“MANUEL NÚÑEZ BUTRÓN II-2, PUNO - 2021**

**TESIS**

**PRESENTADO POR:**

**Bach. JOSE CARLOS GONZALO ALIAGA HANCO**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**LICENCIADO EN BIOLOGIA**

**PUNO – PERÚ**

**2024**



## Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

**CALIDAD BACTERIOLÓGICA DE SUPERFICIES, EQUIPOS, AIRE Y RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE PATÓGENOS GRAM**

AUTOR

**JOSE CARLOS GONZALO ALIAGA HANCOSO**

RECuento de PALABRAS

**32471 Words**

RECuento DE CARACTERES

**179690 Characters**

RECuento DE PÁGINAS

**161 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**4.1MB**

FECHA DE ENTREGA

**May 22, 2024 12:57 PM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**May 22, 2024 12:59 PM GMT-5**

### ● 11% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 11% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 6% Base de datos de trabajos entregados
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

### ● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)

Juan Pablo Huarachi Valencia  
Prof. Mag. egresado por Juan Pablo Huarachi Valencia  
Universidad Nacional del Altiplano  
Repositorio Institucional  
Juan Pablo Huarachi Valencia  
repositorio.unap.edu.pe  
8023161-10621-0890  
PDF Reader Version: 2023.3.0

Resumen



## DEDICATORIA

A mis queridos padres Víctor y Gladys, por todo el apoyo y confianza incondicional brindada hacia mi persona, confianza que me ayudo en mi formación, tanto académica, personal y profesional.

A mis hermanos, Víctor Hugo y Norah Edith quienes siempre están brindándome su apoyo y motivación para poder realizar mi proyecto de investigación y mis proyectos de vida.



## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, mi alma mater, en especial a los docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas, quienes me ayudaron y encaminaron para ser un profesional de valores y ética.

A mis padres por la comprensión, su apoyo incondicional y por la paciencia, disciplina y cariño.

A la Dra. Vicky Cristina Gonzales Alcos mi primera directora de tesis y a mi director de tesis actual MSc. Juan Pablo Huarachi Valencia por su asesoría y apoyo incondicional durante el desarrollo de la presente tesis.

Al jurado conformado por la Dra. Youri Teresa Del Carpio Condori, Mag. Ciria Ivonne Trigos Rondón y Mag. Diana Elizabeth Cavero Zegarra.

Al Hospital Regional “Manuel Núñez Butron” II-2, en especial al servicio de Patología Clínica por las facilidades brindadas hacia mi persona para llevar a cabo el presente trabajo de investigación.

A mis compañeros y amigos de la Universidad, con quienes compartí toda mi vida universitaria; quienes la hicieron más llevadera y grata.



# ÍNDICE GENERAL

	<b>Pág.</b>
<b>DEDICATORIA</b>	
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	
<b>ÍNDICE GENERAL</b>	
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	
<b>ACRÓNIMOS</b>	
<b>RESUMEN .....</b>	<b>14</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>15</b>
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>INTRODUCCIÓN</b>	
<b>1.1. OBJETIVO GENERAL.....</b>	<b>18</b>
<b>1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>18</b>
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b>	
<b>2.1. ANTECEDENTES.....</b>	<b>20</b>
<b>2.2. MARCO TEORICO.....</b>	<b>24</b>
2.2.1. Contaminación del aire .....	24
2.2.2. Contaminación de superficies .....	25
2.2.3. Tipos de contaminación bacteriana.....	25
2.2.4. Contaminación bacteriana intrahospitalaria.....	28
2.2.6. Desinfección de superficies y equipos .....	48
2.2.7. Antibióticos .....	48



2.2.7. Resistencia antibacteriana .....	52
2.2.8. Mecanismo de resistencia antimicrobiana .....	52
2.2.9. Mecanismos de resistencia en bacilos Gram negativos .....	54
2.2.10. Mecanismos de resistencia en Cocos Gram positivos .....	58

### **CAPITULO III**

#### **MATERIALES Y MÉTODOS**

<b>3.1. AREA DE ESTUDIO .....</b>	<b>63</b>
<b>3.2. TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>63</b>
<b>3.3. POBLACION Y MUESTRA .....</b>	<b>63</b>
3.3.1. Población .....	63
3.3.2. Muestra .....	64
3.3.3. Frecuencia de muestreo .....	65
<b>3.4. METODOLOGIA.....</b>	<b>66</b>
3.4.1. Calidad bacteriológica de superficies y equipos .....	66
3.4.2. Calidad bacteriológica de ambientes de laboratorio clínico .....	86
3.4.3. Resistencia antimicrobiana de bacterias patógenas intrahospitalarias aisladas de superficies y equipos del servicio de laboratorio clínico .....	90

### **CAPÍTULO IV**

#### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

<b>4.1. CONTAMINACION BACTERIANA INTRAHOSPITALARIA EN SUPERFICIES Y EQUIPOS .....</b>	<b>98</b>
<b>4.2. CONTAMINACION BACTERIANA INTRAHOSPITALARIA EN AMBIENTES .....</b>	<b>107</b>



<b>4.3. RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE BACTERIAS PATÓGENAS</b>	
<b>INTRAHOSPITALARIAS AISLADAS DE SUPERFICIES INERTES Y</b>	
<b>EQUIPOS .....</b>	<b>116</b>
4.3.1. Bacterias Gram positivas .....	116
4.3.2. Bacterias Gram negativas.....	120
<b>V. CONCLUSIONES .....</b>	<b>127</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>129</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....</b>	<b>130</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>144</b>

**AREA:** Ciencias Biomedicas

**SUBLINEA DE INVESTIGACION:** Diagnostico y epidemiologia

**FECHA DE SUSTENTACIÓN:** 27/05/2024



## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1</b> Analisis de nivel de contaminacion en pre y post-desinfección en superficies inertes y equipos del servicio de laboratorio clinico del Hospital Regional “Manuel nuñez Butron II-2”, Puno, 2022 .....	99
<b>Figura 2</b> Bacterias Contaminantes intrahospitalarias de superficies inertes y equipos en pre y post-desinfección en el servicio de Laboratorio Clinico del Hospital Regional “Manuel Nuñez Butron II-2, Puno, 2022 .....	100
<b>Figura 3</b> Analisis de la presencia de bacterias contaminantes intrahospitalarias de superficies inertes y equipos en pre y post-desinfección en del servicio de laboratorio clinico del Hospital Regional “Manuel nuñez Butron II-2”, Puno, 2022 .....	103
<b>Figura 4</b> Analisis de nivel de contaminacion de mesofilos arobios halladas en el aire durante y al finalizar el turno diurno en las dierentes areas del servicio de laboratorio clinico del Hospital Regional “Manuel nuñez Butron II-2”, Puno, 2022 .....	109
<b>Figura 5</b> Bacterias Contaminantes intrahospitalarias del aire aisladas durante y al finalizar la guardia diurna del servicio de laboratorio clinico del Hospital Regional “Manuel Nuñez Butron II-2”, Puno, 2022 .....	110
<b>Figura 6</b> Analisis de la presencia de bacterias contaminantes intrahospitalarias del aire aisladas durante y al finalizar la guardia diurna del servicio de laboratorio clinico del Hospital Regional “Manuel nuñez Butron II-2”, Puno, 20222 .....	113
<b>Figura 7</b> Analisis de la suceptibilidad de Staphylococcus aureus frente a distintos tipos de antibioticos aislados de superficies inertes y equipos del servicio de	





	laboratorio clinico del Hospital Regional “Manuel nuñez Butron II-2”, Puno, 2022 .....	117
<b>Figura 8</b>	Analisis de la suceptibilidad de Escherichia coli frente a distintos tipos de antibioticos aislados de superficies inertes y equipos del servicio de laboratorio clinico del Hospital Regional “Manuel nuñez Butron II-2”, Puno, 2022 .....	121
<b>Figura 9</b>	Analisis de la suceptibilidad de Klebsiella spp. frente a distintos tipos de antibioticos aislados de superficies inertes y equipos del servicio de laboratorio clinico del Hospital Regional “Manuel nuñez Butron II-2”, Puno, 2022 .....	124
<b>Figura 10</b>	Croquis del servicio de laboratorio clinico, zonas tomadas como puntos de muestreo para analisis bacteriologico de superficies.....	144
<b>Figura 11</b>	Croquis del servicio de laboraotio clinico, zonas tomadas como puntos de muestreo para analisis bacteriologico de superficies.....	145
<b>Figura 12</b>	Ambientes de laboratorio clinico del servicio de patologia clinico del Hospital Regional “Manuel Nuñez Butron II-2”, Puno, 2022 .....	152
<b>Figura 13</b>	Superficies y equipos de laboratorio clinico del servicio de patologia clinica del Hospital Regional “Manuel Nuñez Butron II-2”, Puno, 2022.....	152
<b>Figura 14</b>	Preparacion de medios de cultivo en material de vidrio y autoclavado .....	153
<b>Figura 15</b>	Toma de muestra en superficies inertes del servicio de laboratorio clinico del Hospital Regional “Manuel Nuñez Butron II-2”, Puno, 2022.....	153
<b>Figura 16</b>	Toma de muestra en superficies de equipos del servicio de laboratorio clinico del Hospital Regional “Manuel Nuñez Butron II-2”, Puno, 2022.....	154
<b>Figura 17</b>	Inoculacion de muestreo de superficies y equipos, en placa Petri con agar TSA.....	154



<b>Figura 18</b>	Muestreo mediante el método de sedimentación en placa de ambientes de laboratorio clínico del Hospital Regional “Manuel Nuñez Butron II-2”, Puno, 2022.....	155
<b>Figura 19</b>	Recuento de colonias halladas luego de la incubación .....	155
<b>Figura 20</b>	Bacterias Gram positivas aisladas en microscopía a 100x.....	156
<b>Figura 21</b>	Crecimiento bacteriano en Agar Sangre.....	156
<b>Figura 22</b>	Crecimiento bacteriano en Agar MacConkey .....	157
<b>Figura 23</b>	Crecimiento bacteriano en Agar manitol salado .....	157
<b>Figura 24</b>	Pruebas bioquímicas para Gram negativos (Enterobacterias).....	158



## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1</b> Enzimas modificadoras de sensibilidad a aminoglicosidos .....	57
<b>Tabla 2</b> Antibioticos indicadores de mecanismos de resistencia especificos para bacterias patogenas .....	62
<b>Tabla 3</b> Areas de toma de muestra de superficies inertes de laboratorio clinico .....	64
<b>Tabla 4</b> Areas de toma de muestra de ambientes de laboratorio clinico .....	65
<b>Tabla 5</b> Parámetros para niveles de contaminacion de superficies hospitalarias y/o quirófanos .....	69
<b>Tabla 6</b> Guia de reacciones bioquimicas de Enterobacterias .....	84
<b>Tabla 7</b> Concentración de bacterias mediante niveles de contaminacion .....	88
<b>Tabla 8</b> Discos de sensibilidad antimicrobianos .....	95
<b>Tabla 9</b> Nivel de contaminacion hallados en pre y post desinfeccion en superficies inertes y equipos del servicio de laboratorio clinico del Hospital Regional “Manuel Nuñez Butron II-2”, Puno, 2022 .....	98
<b>Tabla 10</b> Nivel de contaminacion de mesofilos aerobios hallada en el aire durante el turno diurno en las diferentes areas del servicio de laboratorio clinico del Hospital Regional “Manuel Nuñez Butron II-2”, Puno, 2022 .....	108
<b>Tabla 11</b> Susceptibilidad de Staphylococcus aureus frente a distintos tipos de antibioticos aislados de superficies inertes y equipos del servicio de laboratorio clinico del Hospital Regional “Manuel Nuñez Butron II-2”, Puno, 2022 .....	116
<b>Tabla 12</b> Susceptibilidad de Escherichia coli frente a distintos tipos de antibioticos aislados de superficies inertes y equipos del servicio de Laboratorio clinico del Hospital Regional “Manuel Nuñez Butron II-2”, Puno, 2022 .....	120



<b>Tabla 13</b>	Susceptibilidad de Klebsiella spp. frente a distintos tipos de antibióticos aislados de superficies inertes y equipos del servicio de Laboratorio Clínico del Hospital Regional “Manuel Nuñez Butron II-2”, Puno, 2022 .....	123
<b>Tabla 14</b>	Recuento total de mesófilos aerobios en superficies inertes y equipos en pre-desinfección, del servicio de Laboratorio Clínico del Hospital Regional “Manuel Nuñez Butron II-2”, Puno, 2022 .....	146
<b>Tabla 15</b>	Recuento total de mesófilos aerobios en superficies inertes y equipos en post-desinfección del servicio de laboratorio clínico del Hospital Regional “Manuel Nuñez Butron II-2”, Puno, 2022 .....	148
<b>Tabla 16</b>	Recuento total de mesófilos en ambientes durante el turno diurno del servicio de laboratorio clínico del Hospital Regional “Manuel Nuñez Butron II-2”, Puno, 2022 .....	150
<b>Tabla 17</b>	Recuento total de mesófilos en ambientes al finalizar el turno diurno del servicio de laboratorio clínico del Hospital Regional “Manuel Nuñez Butron II-2”, Puno, 2022.....	151



## ACRÓNIMOS

INS:	Instituto Nacional de Salud
MINSA:	Ministerio de Salud
TSA:	Agar Triptona-Soja
AMC:	Agar Mac Conkey
AMS:	Agar Manitol Salado
AS:	Agar Sangre
TSI:	Agar Triple Azúcar Hierro
LIA:	Agar Lisina-Hierro
CITRATO:	Agar Citrato de Simmons
SIM:	Medio Sulfuro Indol para Movilidad
%:	Porcentaje
AMC:	Amoxicilina / ácido clavulánico
Msnm:	Metros sobre el nivel del mar
UCI:	Unidad de Cuidados intensivos
et al.:	Y colaboradores
IIH:	Infecciones intrahospitalarias



## RESUMEN

La calidad bacteriológica de ambientes y superficies inertes, es indispensable por el riesgo que representa a nivel mundial, nacional y local, debido a que actúan como vehículos de transmisión de bacterias patógenas intrahospitalarias; por ello el presente estudio tuvo como objetivo determinar la calidad bacteriológica de superficies inertes, equipos, aire y resistencia antimicrobiana de bacterias patógenas aisladas en pre y post desinfección en el servicio de Laboratorio Clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón II-2” – Puno 2022. El estudio fue de nivel descriptivo y de tipo cuantitativo, analítico, de corte transversal, la muestra estuvo conformada por 30 superficies inertes y/o de equipos y 4 ambientes de laboratorio clínico, siendo la metodología el uso del hisopado de superficies, sedimentación en placa, aislamiento en medios de cultivo, reacciones bioquímicas y para resistencia antibacteriana el método de difusión Kirby – Bauer, los datos fueron analizados mediante frecuencias y la prueba de chi cuadrado con una significancia del 5%. Como resultados se encontró que la calidad bacteriológica determinada mediante presencia de mesófilos viables en equipos y superficies inertes fue intolerable (pre 37% post desinfección 29%,  $p>0.05$ ) siendo el área de bioquímica y toma de muestra las de calidad intolerable; y de calidad optima las áreas de hematología y microbiología, donde las cepas bacterianas de más presencia son *Staphylococcus epidermidis* (pre 41.3% y postdesinfección 49.3%,  $p>0.05$ ) y cepas de *Staphylococcus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus sp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* entre otros; por otra parte, se estableció que la calidad bacteriológica del aire presentaba una muy baja contaminación en las áreas de bioquímica, hematología y microbiología (durante 78%, al final 74%,  $p>0.05$ ) y de calidad intermedia toma de muestra, siendo *Staphylococcus epidermidis* el más frecuente (durante 48%, al final 26.5%,  $p<0.05$ ), hallando también, cepas de *Staphylococcus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus sp.* y *Micrococcus sp.*. Asimismo, se encontró que *Staphylococcus aureus* es principalmente resistente a eritromicina, clindamicina y oxacilina ( $p<0.05$ ), *Escherichia coli* a amoxicilina/ácido clavulánico, sulfametoxazol/trimetoprima ( $p>0.05$ ), y *Klebsiella spp.* resistente a ampicilina ( $p>0.05$ ). Se concluye que la desinfección aplicada en equipos y superficies no es óptima, y que la calidad del aire en el laboratorio tiene muy baja contaminación no difiriendo durante y al finalizar la guardia, sin embargo, hay 3 bacterias patógenas de interés en salud pública con resistencia a los antibióticos de las que *S. aureus* es la más significativa.

**Palabras clave:** Calidad bacteriológica, Bacterias patógenas intrahospitalarias, Resistencia antimicrobiana, Contaminación bacteriológica, Mesófilos viables.



## ABSTRACT

The bacteriological quality of inert environments and surfaces is essential due to the risk they represent at a global, national and local level, because they act as vehicles for the transmission of intra-hospital pathogenic bacteria; Therefore, the present study aimed to determine the bacteriological quality of inert surfaces, equipment, air and antimicrobial resistance of pathogenic bacteria isolated in pre and post disinfection in the Clinical Laboratory service of the “Manuel Núñez Butrón II-2” Regional Hospital – Puno 2022. The study was descriptive and quantitative, analytical, cross-sectional, the sample was made up of 30 inert and/or equipment surfaces and 4 clinical laboratory environments, the methodology being the use of surface swabs, sedimentation in plates, isolation in culture media, biochemical reactions and for antibacterial resistance the Kirby-Bauer diffusion method, the data were analyzed using frequencies and the chi-square test with a significance of 5%. As results, it was found that the bacteriological quality determined by the presence of viable mesophiles in equipment and inert surfaces was intolerable (pre 37% post disinfection 29%,  $p>0.05$ ) with the biochemistry and sampling area having intolerable quality; and of optimal quality the areas of hematology and microbiology, where the bacterial strains with the most presence are *Staphylococcus epidermidis* (pre 41.3% and postdisinfection 49.3%,  $p>0.05$ ) and strains of *Staphylococcus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus sp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.* among others; On the other hand, it was established that the bacteriological quality of the air presented a very low contamination in the areas of biochemistry, hematology and microbiology (during 78%, at the end 74%,  $p>0.05$ ) and of intermediate quality sample collection, being *Staphylococcus epidermidis* the most frequent (during 48%, at the end 26.5%,  $p<0.05$ ), also finding strains of *Staphylococcus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus sp.* and *Micrococcus sp.* Likewise, *Staphylococcus aureus* was found to be mainly resistant to erythromycin, clindamycin and oxacillin ( $p<0.05$ ), *Escherichia coli* to amoxicillin/clavulanic acid, sulfamethoxazole/trimethoprim ( $p>0.05$ ), and *Klebsiella spp.* resistant to ampicillin ( $p>0.05$ ). It is concluded that the disinfection applied to equipment and surfaces is not optimal, and that the air quality in the laboratory has very low contamination, not differing during and at the end of the shift, however, there are 3 pathogenic bacteria of interest in public health with resistance. to antibiotics of which *S. aureus* is the most significant.

**Keywords:** Bacteriological quality, In-hospital pathogenic bacteria, Antimicrobial resistance, Bacteriological contamination, Viable mesophiles.



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

La calidad bacteriológica para laboratorio clínico es imprescindible, debido a la manipulación de muestras biológicas que se realizan diariamente (orina, heces, saliva, sangre, plasma, suero, líquido cefalorraquídeo, entre otros), por ende, es común la manipulación de cepas bacterianas y material biológico. Por ello se presume que, esta contaminación afecta tanto al ambiente como a las superficies inertes y/o vivas que se encuentran dentro del laboratorio clínico, la cual incrementa si no se aplican las medidas de limpieza y desinfección adecuadas; asimismo, estas medidas limitan el riesgo de propagación de estas cepas bacterianas, es necesario también seguir como las recomendaciones de los manuales de bioseguridad, los cuales establecen la obligatoriedad de la desinfección y limpieza de superficies de trabajo al finalizar cada tarea.

Las muestras biológicas no solamente contienen bacterias, sino una gran variedad de patógenos como: hongos, levaduras, virus, protozoos, helmintos, priones, etc. (Gonzales et al., 2014), por ello el presente estudio es importante para determinar la presencia de estos patógenos en el laboratorio clínico, que afecta directa o indirectamente a los pacientes ambulantes, hospitalizados, personal de salud y personal de limpieza; por ende, el laboratorio clínico es un área expuesta a distintos tipos de contaminantes biológicos y posibles focos infecciosos peligrosos para la salud pública (Acosta, 2011).

El Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón”, es el establecimiento de salud de referencia en la región Puno, que presta servicios de diagnóstico, atención especializada y hospitalización; por ello es importante contar con antecedentes y/o estudios acerca de la calidad bacteriológica de superficies, equipos y/o materiales con los cuales se trabaja dentro de cada servicio del hospital, por ello es importante estudiar el servicio de





patología clínica, por el contacto constante con muestras biológicas, así como con los pacientes, personal de salud durante la toma de muestra, recojo de material o resultados, visitas médicas o administrativas, y debido a que estos análisis son indispensables para contribuir y asegurar la calidad sanitaria (MINSA, 2007).

Asimismo, según la Dirección General de Epidemiología, a nivel nacional los pacientes con más riesgo de adquirir una infección intrahospitalaria son los pacientes que ingresan a hospitalización (Garro y Quispe, 2014; Pérez, 2016), menciona que los estudios e investigaciones acerca de la transmisión de microorganismos aéreos es importante para la salud de pacientes, personal de salud y población en general. Por otro lado, el servicio de Patología Clínica atiende al día una cantidad considerable de pacientes de diferentes servicios y geo localidades, por lo que siempre se tiene la debida precaución con el material biológico, precaución que está plasmada en el manual de bioseguridad; sin embargo, no se cuenta con antecedentes bacteriológicos que ayuden a reconocer áreas críticas (Gonzales et al., 2014; Romero et al., 2016).

Las acciones de limpieza y desinfección, evita la diseminación de cepas patógenas que puedan albergar a microorganismo resistentes a antibióticos; dentro de los ambientes hospitalarios y de estos a la comunidad (Espinoza, 2017). A nivel mundial las infecciones intrahospitalarias (IIH) o infecciones asociadas a la atención de salud (IAAS) afecta cada año a millones de pacientes en todo el mundo, por ello, es un problema de salud pública, por la frecuencia con la que se produce la resistencia antibiótica que adquieren estas con el tiempo (MINSA, 2019; OMS, 2013).

Por lo tanto, el presente estudio beneficiará a los diferentes organismos de salud pertinentes a realizar una vigilancia adecuada, de la contaminación bacteriana producida en estas áreas sometidas a estudio; ya que servirá como guía, teniendo en cuenta la fase



preanalítica, analítica y post-analítica; asimismo, al evaluar la resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas como son: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas sp.*, *Streptococcus sp.*, que son bacterias patógenas las cuales influyen en las infecciones nosocomiales. También, el presente estudio permitirá que nuevos trabajos de investigación cuenten con antecedentes, para así realizar trabajos de investigación eficiente y de gran importancia para entidades hospitalarias públicas y privadas, así como para, laboratorios universitarios, a nivel regional y nacional. Además, son de gran importancia para valorar, si la desinfección y limpieza esta realizada adecuadamente en los distintos ambientes hospitalarios, lo cual evitaría brotes de enfermedades y patología, las cuales pueden poner en riesgo la vida de la población hospitalaria y del personal de salud (Chiong et al., 2018).

### **1.1. OBJETIVO GENERAL**

- Determinar la calidad bacteriológica de superficies, equipos, aire y resistencia antimicrobiana de patógenos Gram positivos y negativos del servicio de laboratorio clínico del hospital regional “Manuel Núñez Butrón II-2” – 2021.

### **1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar la calidad bacteriológica de superficies y equipos pre y post-desinfección en áreas de bioquímica, hematología, microbiología y toma de muestras del servicio de Laboratorio Clínico del HRMNB II-2” de Puno.
- Establecer la calidad bacteriológica del aire en las áreas de bioquímica, hematología, microbiología y toma de muestras, durante y después de



finalizar el turno diurno en el servicio de Laboratorio Clínico del HRMNB II-2” de Puno.

- Evaluar la resistencia antimicrobiana de bacterias patógenas Gram positivas (*Staphylococcus sp*, *Streptococcus sp.*) y Gram negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*), aislada de superficies y equipos del servicio de Laboratorio Clínico del HRMNB II-2, Puno.



## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. ANTECEDENTES

En el ámbito nacional, en un estudio bacteriológico. Larico (2022), aisló en teléfonos celulares del personal de salud del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón, *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina, eritromicina y clindamicina, además de *Escherichia coli* resistente a amoxicilina + ácido clavulánico y *Enterobacter sp.* resistente a la penicilina y ampicilina sulbactam, asimismo Fredes (2020), determinó el nivel de contaminación microbiológica de piezas de mano de alta velocidad en laboratorios odontológicos, donde de 60 muestras de superficies, el 90% de contaminación fue por *Staphylococcus*, 40% en *Streptococcus* y 24% de coliformes totales.

Por otro lado, en su boletín epidemiológico el MINSA (2019), da a conocer que la contaminación bacteriana es de gran relevancia por las infecciones intrahospitalarias que se generan en el Perú, variando entre un 3.7 a 7.5% la presencia de este tipo de infección; esto dependiendo del tipo de institución hospitalaria y categorías de los establecimientos como: establecimientos I-4 con 68 apariciones (28%); II-1 con 88 (33%); establecimientos II-2 con 47 (19%); II-E con 4 (2%); III-1 con 30 (12%); III-2 con 9 (4%) y sin categorías S/C 6 (2%). Charca (2019), en su estudio realizado en estetoscopios del personal asistencial y de en los ambientes de medicina general del Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” en Puno, halló en estetoscopios un 27.3% de contaminación por *Staphylococcus aureus*; un 22.7% por *Escherichia coli* y 13.6% por *Klebsiella pneumoniae*, mientras que en los ambientes de medicina (habitación de los hospitalizados, guardador de instrumentos clínicos) se encontró *Staphylococcus aureus* en un 50%, *Klebsiella pneumoniae* 16.7% y *Escherichia coli* 8.3%.



Janampa (2019), en su trabajo de investigación acerca de infecciones intrahospitalarias en las unidades de cuidados intensivos de neonatología y pediatría del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron”, encontró una incidencia en recién nacidos del 6.2% a 10.8% de infecciones por cada 100 pacientes y la mortalidad en unidades de cuidados intensivos se estimó en 11%. Por otra parte, Díaz et al. (2018), logró aislar 123 cepas bacterianas en pacientes hospitalizados con un 55.3% de presencia de *E. coli*, 8.1% de *K. pneumoniae* y 36.6% de cepas de otras especies, asimismo la producción de betalactamasas de espectro extendido se observó en un 45.5% de cepas aisladas, de las cuales el 85.7% fueron *E. coli* y solo 14.3% *K. pneumoniae*.

Por otro lado, Chura (2017), en su trabajo determinó la contaminación bacteriana en termómetros clínicos en el servicio de Pediatría del Hospital Carlos Monge Medrano de Juliaca, donde encontró en los termómetros orales a *Staphylococcus epidermidis* (52.5%), *Staphylococcus aureus* (25.3%); *Escherichia coli* (1.7%) y *Streptococcus sp* (1.7%) y en los termómetros rectales a *Staphylococcus aureus* (1.7%), *Escherichia coli* (6.8%) y *Staphylococcus epidermidis* (6.8%). Además, Espinoza (2017), en un estudio similar, aisló bacterias patógenas de superficies de teléfonos celulares del personal de salud, del Hospital Daniel Alcides Carrión de Huancayo donde tuvo mayor predominio *Escherichia coli* (28.70%) en celulares; *Staphylococcus aureus* (15.65%); *Streptococcus spp.* (1.74%) y otras cepas bacterianas en 53.91%, todas ellas bacterias patógenas oportunistas consideradas nosocomialmente bacterias con potencial a infección.

Asimismo, Ramos (2017), realizó una tesis experimental sobre la problemática de las enfermedades intrahospitalarias asociadas a bacterias patógenas en el área de unidad de cuidados intensivos del Hospital Goyeneche III-1 en Arequipa, donde halló distintas cepas de bacterias patógenas como: *Pseudomonas. aeruginosa* (20.22%), *Acinetobacter baumannii* (16.85%), *Staphylococcus coagulasa negativo* (15.73%); *Staphylococcus*



*aureus* (12.36%), *E. coli* (10.11%) y *K. pneumoniae* (4.49%). Por otro lado, Yupanqui (2017), realizó un estudio en una entidad hospitalaria, donde de 1175 urocultivos positivos, 26.5% correspondió a *Escherichia coli* BLEE positivo, hallándose resistencia a la amikacina (91.7%); imipenem (91.5%), ácido nalidíxico (94%) y Cefalotina (89.8%).

En otro estudio Flores (2015), realizó un estudio en la clínica de estomatología de la Universidad Señor de Sipán en Lambayeque, donde halló Enterobacterias, *Staphylococcus* y *Pseudomonas*, correspondiendo el 83.8% a piezas contaminadas, asimismo, Garro y Quispe (2014), publicaron un protocolo en donde se halló una prevalencia de infecciones intrahospitalarias a causa de bacterias patógenas, las cuales fueron aisladas de ambientes y superficies de centros hospitalarios/DISAS/DIRESAS en Lima y algunas regiones, cuyos resultados indicaron 0 a 15% de presencia de infecciones intrahospitalarias, dependiendo de la categoría del establecimiento y complejidad.

En el ámbito internacional M. Rosero (2020), quien hizo un monitoreo microbiológico de superficies en el Hospital del Día en Ecuador halló una contaminación de  $5.0 \cdot 10^3$  UFC/cm<sup>2</sup>,  $4.2 \cdot 10^3$  UFC/cm<sup>2</sup> y  $2.8 \cdot 10^2$  UFC/cm<sup>2</sup> en las superficies inertes regulares y en su repetición en las mismas superficies halló  $1.8 \cdot 10^4$  UFC/cm<sup>2</sup>,  $6.8 \cdot 10^3$  UFC/cm<sup>2</sup> y  $4.2 \cdot 10^2$  UFC/cm<sup>2</sup>. En un artículo similar Cisneros et al. (2019), en Instituciones de Salud de Querétaro halló en quirófano un 26.2% de presencia de bacterias patógenas, en laboratorio un 12.5%; en UCI adultos 11.25%; y en UCI neonatales, medicina interna y cirugía general un 8.7%; en cirugía fue de 7.5%, urgencias un 3.8% y Nutrición un 2.5%.

Por otro lado P. S. Silva (2019), en un análisis bacteriológico de billetes y monedas en la Universidad Central del Ecuador, se halló un 87.84% de contaminación en billetes aislándose bacterias como: *Bacillus subtilis* (81.08%), *Bacillus cereus* (59.46%),



cocos coagulasa negativos (51.35%), *Escherichia coli* (43.24%), *Enterobacter spp.* en (18.92%), *Staphylococcus aureus* (14.86%), *Citrobacter spp.* (13.51%), *Shigella spp.* (10.81%), *Streptococcus viridans* (alfa hemolítica) (9.46%), *Streptococcus* no hemolíticos (8.11%), *Pseudomonas spp* (6.76%), *Klebsiella spp.* (4.05%), *Serratia spp.* (4.05%), *Salmonella spp.* (1.35%), *Pseudomonas aeruginosa* (1.35%), y en monedas se aislaron: cocos coagulasa negativos (36.29%), *Bacillus subtilis* (29.84%), *Bacillus cereus* (20.97%), *Escherichia coli*, (6.45%), *Citrobacter spp.* (2.42%), *Pseudomonas spp.* (6.76%), *Shigella spp.* (0.81%) y sin crecimiento en 12.16% de superficies de monedas.

Sandoval (2018), en Ecuador, en celulares de estudiantes universitarios hallo un 100% de contaminación bacteriana debida a *Staphylococcus* coagulasa negativo (80.67%), *Staphylococcus aureus* (15.33%), *Escherichia coli* (8.0%), *Bacillus subtilis* (6.67%), *Enterobacter spp.* (6.67%), *Shigella spp.* (4.67%), *Serratia spp.* (4.67%), *Bacillus cereus* (3.33%), *Citrobacter freundii* (1.33%), *Klebsiella spp.* (1.33%), *Pseudomonas spp.* (0.67%), *Pseudomonas aeruginosa* (0.67%), *Streptococcus viridans* (0.67%) y *Streptococcus*  $\gamma$ -hemolítico (0.67%). Por otro lado Romero et al. (2016), en su estudio realizado en el laboratorio de microbiología de la Universidad Distrital de Bogotá Colombia, donde determinó la calidad bacteriológica del aire, encontró una concentración bacteriana de 1152.8 UFC/m<sup>3</sup> en mesones de estudiantes y de 681.2 UFC/m<sup>3</sup> en muebles de almacenamiento, en donde se aislaron: *Corynebacterium renale*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Leuconostoc*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Yersinia*, *Serratia*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Citrobacter* y *Acinetobacter*.

Asimismo, Naranjo (2015), en otro estudio en unidades médicas en Quito, obtuvo una concentración bacteriana de 7.43 UFC/cm<sup>2</sup> para bacterias mesófilas, 0.09 UFC/cm<sup>2</sup> de concentración de levaduras, y una concentración de 355.32 UFC/cm<sup>2</sup> en baños de las



unidades médicas, por otro lado Castañeda y Ordoñez (2014), en su estudio en superficies de hospitales, halló *E. coli*, *Salmonella spp.*, *S. aureus* en todos sus puntos de muestreo con un 100% de presencia de estas bacterias, asimismo se halló *Candida albicans* (90%), *Rinovirus* (62%), virus de la hepatitis A (33%) y *Rotavirus* (16%), también en el ambiente se halló contaminación por *A. baumannii*, *C. difficile*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* meticilino resistente, *Enterococcus* resistente a vancomicina y virus (*Rotavirus* y *Norovirus*).

## 2.2. MARCO TEORICO

### 2.2.1. Contaminación del aire

La contaminación del aire para el ministerio del ambiente, se da principalmente por el inadecuado nivel de calidad aéreo en un ambiente, el cual es definido por valores físicos, químicos y microbiológicos (MINAM, 2017), en las áreas hospitalarias esto representa un problema potencial debido a los biocontaminantes que se transportan y eventualmente tocan superficies. Asimismo, es de importancia para la salud pública, porque la calidad del aire ya sea interno o externo, es un factor de riesgo a tomar en cuenta en la salud de la población (Abad, 2016; Ramos et al., 2016).

El estudio de la contaminación aérea, es vital debido a los riesgos que produce a nivel mundial en la salud la población, por microorganismos como esporas, bacterias, virus, hongos, etc., por ende, la atmósfera no cuenta con un microbiota autóctona, ya que pueden ser procedentes de otros tipos de ambientes. Además, estas pueden crear mecanismos de defensa para adaptarse a su entorno para así favorecer su supervivencia y permanencia dentro de un determinado ambiente (Quishpe, 2021; Silva, 2018).





### **2.2.2. Contaminación de superficies**

La contaminación de superficies se debe principalmente a la ineficacia de procesos de limpieza y desinfección, los cuales requieren ser evaluados. Esto va de la mano con el tipo de superficies y la capacidad de adhesión microbiana que tengan dichos patógenos ya sean para superficies vivas o inertes. Además, la contaminación en superficies tiene su origen en mecanismos primarios, contaminación, sudoración y el entorno (Maso, *et al.*, 2019).

Asimismo, las superficies sobre todo inertes no son de tanto riesgo al momento de transmitir algún tipo de infección, debido a que estas contribuyen más a la contaminación cruzada secundaria sobre todo si estas entran en contacto con superficies vivas y cabe resaltar que generalmente estas bacterias patógenas pueden perdurar hasta por meses, de ahí la importancia de una adecuada limpieza y desinfección (Alvarado *et al.*, 2018; Gonzales *et al.*, 2014).

### **2.2.3. Tipos de contaminación bacteriana**

Según el origen del agente patógeno, las infecciones pueden ser endógenas (surgir a partir de patógenos presentes sobre un cuerpo), microorganismos que normalmente están en la piel o mucosas, los cuales son capaces de provocar enfermedad cuando penetran los tejidos más profundos; e infecciones exógenas, los cuales se dan como resultado de agentes ambientales, que pueden ser adquiridos mediante alimentos, agua, aire, objetos, picaduras de insectos o a través de seres humanos o animales que están presentes en el ambiente (Engleberg *et al.*, 2013; Riedel *et al.*, 2019).



### **2.2.3.1. Principales vías de transmisión de las infecciones**

#### **bacterianas**

Las bacterias (y otros microorganismos) se adaptan a diversos ambientes como tierra, agua y materia orgánica o fuentes internas encontradas en insectos vectores, animales y seres humanos, donde por lo general habitan y subsisten. Estos al convertirse en hábitat usual de bacterias aseguran su supervivencia y aumentan la probabilidad de transmisión. Asimismo, aumenta la probabilidad de transmisión de una persona a otra, a través de varios mecanismos de transmisión (Charca, 2019; Madigan et al., 2015; Riedel et al., 2019).

Las vías de entrada de bacterias patógenas al cuerpo más comunes son los sitios donde las mucosas se unen con la piel (vías respiratorias inferiores y superiores), tubo digestivo (principalmente la boca), aparato genital y urinario; para esto estas bacterias patógenas tienen que pasar barreras físicas (lavado, tos, lagrimeo, micción, piel, mucosas); químicas (lisozima, pH); biológicas (resistencia natural, flora normal); respuesta inmune inespecífica o innata (inflamación, fagocitosis, células asesinas naturales, interferón) (Llop et al., 2001). Asimismo, Riedel et al. (2019) indican que, al atravesar estas barreras, estos se convierten en sitios frecuentes de entrada, entre otras vías encontramos a las laceraciones, quemaduras y otras lesiones, los cuales se dan a través de varios mecanismos de transmisión como:

- Vía inhalatoria. Los aerosoles son los principales medios de transmisión de bacterias patógenas respiratorias, se da de una persona



a otra, generalmente mediante aerosoles, producidas por gotículas al toser o estornudar (gotitas de Flugge o núcleos de Wells). En laboratorio son de gran importancia debido a la formación de aerosoles por manipulación de equipos o muestras biológicas (según las condiciones de bioseguridad) (De la Rosa et al., 2015; Riedel et al., 2019).

- Contacto directo. Se da por contacto persona - persona (como las ETS), contacto animal – humano (zoonosis o antropozoonosis) y fómites el cual se da por un objeto inanimado el cual puede transmitir un agente infeccioso, pero que no soporta su multiplicación (Charca, 2019; Riedel et al., 2019).
- Transmisión parenteral. Se dan mediante inoculación la cual ocurre por traumatismo accidental o una herida quirúrgica (pinchazos con agujas, perfusión de sangre, trasplante de órganos); puede darse mediante vectores; vía transplacentaria, cuando al momento de la gestación de una mujer ocurre infección cruzada mediante la placenta al feto (transmisión vertical) (Riedel et al., 2019).
- Vía digestiva. Se da mediante alimentos y agua contaminada, los cuales pueden transmitir diversos tipos de infecciones, siendo la ruta fecal-oral la más habitual, seguido de la mala manipulación, cocción inadecuada, entre otros; y mediante individuos portadores de microorganismos patógenos los cuales son asintomáticos, los cuales pueden ser persistentes o transitorios (Riedel et al., 2019).



- Infección oportunista. Se dan cuando un portador o individuo tiene un sistema inmunodeprimido, lo cual lo hace susceptible a una infección por parte de microorganismos de baja virulencia, o inofensivos normalmente (Riedel et al., 2019)
- Infecciones hospitalarias o nosocomiales. Se adquiere mediante la estancia de enfermos en un recinto hospitalario. Son fruto de alteraciones en el sistema inmunológico como pérdida de barreras anatómicas naturales frente a la infección (cirugía, catéteres, etc.), inmunodepresión (quimioterapia, radioterapia, etc.) (Riedel et al., 2019)
- Infecciones comunitarias o extrahospitalarias. Son aquellas que se desarrollan en individuos sanos, por microorganismos patógenos fuera del recinto hospitalario (Charca, 2019; De la Rosa et al., 2015; Riedel et al., 2019).

#### **2.2.4. Contaminación bacteriana intrahospitalaria**

En cuanto a patógenos bacterianos de ámbitos intrahospitalarios se denotan tres tipos de transmisión bacteriana: bacterias transmisibles en el aire debido a un paciente infectado, resultado de la exposición por parte del paciente al ambiente y/o te contagio mediante vías respiratorias; bacterias transportadas en el aire mediante superficies contaminadas o pacientes infectados (el contagio no es respiratorio) y bacterias representativas aéreas (Larico, 2022). Las bacterias del suelo, el aire, en el agua y en todo tipo de materia orgánica e inorgánica puede ser trasmisor de enfermedades por aire, superficies, en contacto con superficies, suspendidas o dentro de gotas (Macias et al., 2019).



La contaminación bacteriana en recintos hospitalarios proviene de componentes de materia prima, superficies contaminadas y personas que están en contacto en el ambiente; la cual muchas veces da como resultado infecciones nosocomiales las cuales son un problema de salud pública, ya que producen ciertas enfermedades infecciosas en pacientes expuestos a estos patógenos, generalmente se transmiten mediante contacto directo o indirecto, por inhalación, a través de líquidos, alimentos o incluso materiales de trabajo del recinto hospitalario (Alados et al., 2014; MINSALUD, 2018; Vargas, 2016).

Las infecciones intrahospitalarias (IIH) o infecciones nosocomiales bacterianas, son aquellas adquiridas dentro del recinto hospitalario las cuales no estaban presentes al momento del ingreso del paciente; la capacidad de producir enfermedad depende de la patogenicidad de la bacteria en cuestión, ya que son capaces de llegar a dañar a su hospedero. Estas infecciones intrahospitalarias son producidas tanto por Gram positivos como Gram negativos, los cuales se encuentran en los ambientes, superficies y equipos hospitalarios, las cuales además pueden producir una resistencia (Pérez et al., 2010; Quizhpe et al., 2014).

#### **2.2.4.1. Bacterias patógenas intrahospitalarias**

Debido a la cantidad de especies bacterianas patógenas, es que los estudios de mayor énfasis se les da a los que generan resistencia a los distintos antibióticos, cabe recalcar que estas mismas se encuentran en mayor proporción en los centros médicos; hospitalarios, de investigación, etc. Asimismo, todo depende de sus vías de transmisión bacteriana, endógena (bacterias presentes en pacientes, locales o a distancia moderada



al lugar en cuestión), y exógena (personal de salud, aire, y medio ambiente inanimado) (Arias et al., 2016; OMS, 2020).

En cuanto a la calidad bacteriana de recintos hospitalarios, tiene que ver con cuan adecuado es una sustancia cosa o servicio para el uso que se pretende de él; por ende, implica satisfacer las necesidades de los consumidores y, en la medida de lo posible, superar sus expectativas. Asimismo, el estudio de la bacteriología permite corroborar los principios por el cual las bacterias poseen tantas características, lo cual las hacen el sujeto ideal para investigar diversos fenómenos biológicos (Lizarzaburu, 2016; Vargas, 2016).

Entre los géneros más importantes tenemos a:

#### **A. Enterobacterias**

##### *Taxonomía*

DOMINIO	: Bacteria
REINO	: Monera
PHYLUM	: Proteobacteria
CLASE	: Gamaproteibacterias
ORDEN	: Enterobacteriales
FAMILIA	: Enterobacteriácea

**Fuente:** Larico (2022).



## Características generales

Las enterobacterias es el grupo más grande y heterogéneo de bacilos Gram negativos, a los cuales también se les denomina coliformes debido a que habitan el intestino humano y varias especies animales, dentro de la familia *Enterobacteriaceae* están géneros importantes como: *Escherichia*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Morganella*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Edwardsiella* y *Citrobacter*. Asimismo, las enterobacterias se asocian a diversas enfermedades en el ser humano (Arredondo y Villicaña, 2013; Murray et al., 2021; Romero et al., 2018).

El tamaño promedio de estas bacterias son entre 0.5 a 2.0  $\mu\text{m}$  de ancho y de 2 a 4  $\mu\text{m}$  de largo, estas bacterias se multiplican en medios de cultivo enriquecidos con peptona o extracto de carne sin añadir cloruro de sodio u otros complementos; se multiplican bien en agar MacConkey: proliferan en medios aerobios y anaerobios (son anaerobios facultativos), fermentan en vez de oxidar glucosa, a menudo produciendo gas: son catalasa positiva, oxidasa negativa y reducen el nitrato a nitrito, muchas veces se encuentran en los laboratorios de microbiología como causa de infecciones nosocomiales (Murray et al., 2021; Procop et al., 2017).

## Estructura antigénica

Dentro de su serotipificación presentan el antígeno somático “O”, antígeno “H” y antígeno capsular “K” o “Vi”. El antígeno somático forma parte del lipopolisacárido (LPS) o endotoxina. Dentro de los factores de virulencia de las enterobacterias están las fimbrias, adhesinas no fimbriales y las toxinas (endotoxinas y exotoxinas). Una gran parte de estas cepas



bacterianas cuentan con mecanismos de resistencia y multirresistencia a antimicrobianos, lo que complica la conducción adecuada de la infección provocada por estas bacterias (Huarcaya et al., 2022; Marín, 2018).

### **Epidemiología y patogenia**

Estas cepas bacterianas son muy importantes por representar un 50% de las infecciones diagnosticadas en microbiología (*Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Serratia*, *Proteus*); asimismo estas colonizan al hombre de manera asintomática y aportándoles ventajas al ser flora bacteriana normal del colon y como colonizadores transitorios de la piel (síntesis de vitaminas y antagonistas de elementos cancerígenos). Sin embargo, si estas llegan a introducirse en zonas anatómicas estériles e idóneas para su desarrollo (tracto urinario o peritoneo), la persona sufre una infección (cistitis, peritonitis)(Bush, 2022; De la Rosa et al., 2015).

Todas las enterobacterias, poseen lipopolisacáridos en la pared celular, la cual es una endotoxina la cual es liberada durante la fase de crecimiento bacteriano o después de que las defensas del huésped destruyan estas bacterias. La liberación de esta endotoxina desencadena una serie de reacciones sistémicas que dan lugar al shock séptico que sigue a algunas infecciones por bacterias Gram negativas (De la Rosa et al., 2015; Kenneth y Ray, 2021).





– *Escherichia coli*

***Taxonomía***

DOMINIO	: Bacteria
REINO	: Monera
PHYLUM	: Proteobacteria
CLASE	: Gamaproteibacterias
ORDEN	: Enterobacteriales
FAMILIA	: Yersiniaceae
GENERO	: <i>Escherichia</i>
ESPECIE	: <i>Escherichia coli</i>

**Fuente:** Larico (2022).

**Características morfológicas y estructurales**

Es un bacilo Gram negativo de 2 a 3  $\mu\text{m}$ , anaerobio facultativo, con capsula o microcapsula, mesófilo, móviles, algunas poseen fimbrias, poseen flagelos peritricos y no forman esporas; sin embargo, existen serotipos los cuales son patógenos para los humanos y otros los cuales forman parte de la flora normal del intestino, por ende, existen cepas productoras de enfermedades diarreicas los cuales producen cuadros leves y pueden evolucionar hasta la diarrea persistente u originar mayores complicaciones debido a sus mecanismos patógenos (enterotoxigénico, enteroinvasivo, enteropatogénico, enteroadhesivo y enterohemorrágico), no obstante no todas las cepas son igualmente virulentas; las cepas patógenas pueden estar limitadas a las mucosas o diseminarse (Nau y Metzgar, 2020; Romero et al., 2016).



En las pruebas bioquímicas, es positivo al indol, descarboxila la lisina, produce manitol y gas a partir de la fermentación de glucosa. Se observa fermentación de lactosa, no esporulado, es citrato negativo, oxidasa negativa, catalasa positiva, reduce nitratos a nitritos y tiene plásmidos responsables de la producción de toxinas y de la resistencia a los antimicrobianos (Riedel et al., 2019; Romero et al., 2018).

### **Epidemiología y patogenicia**

La presencia de *Escherichia coli* en un objeto de uso o consumo humano supone una posible contaminación fecal, las diferencias en el grado de virulencia de las cepas de *E. coli* son asociadas a la adquisición de plásmidos, profagos integrados e islas de patogenicidad. Al colonizar los tejidos extraintestinales *E. coli* produce inflamación piógena similar a otras bacterias, donde en ocasiones son de mayor intensidad. Hablamos de la bacteria que produce más infecciones en heridas dentro de los hospitales, la cual puede infectar las vías respiratoria y meninges (Engleberg et al., 2013; Riedel et al., 2019; Rípodas et al., 2017).

Las septicemias provocadas por *E. coli* causa gran preocupación por la gravedad de su pronóstico, ya que puede llegar al hígado, las vías respiratorias u otros órganos; cuando hay una perforación intestinal, son las responsables de la peritonitis subsecuente. En infecciones del tracto urinario representan el 70% de los casos; asimismo *E. coli* puede ser el agente etiológico de enteritis o enterocolitis (diarrea del viajero), representando hasta el (50%) de los casos diarreicos (De la Rosa et al., 2015; Noriega et al., 2020).



En hospitales *E. coli* puede provocar neumonías, por su afinidad para colonizar el tracto respiratorio y la piel de pacientes inmunodeprimidos (por aspiración de secreciones respiratorias contaminadas), infecciones en heridas post-quirúrgicas, etc. En algunos casos excepcionales puede pasar a la sangre originando bacteriemia, sepsis y meningitis neonatal. Asimismo, *Escherichia coli* produce del 7 a 9 % de las infecciones nosocomiales del tracto respiratorio; sin embargo, tiene un papel más importante como agente etiológico de infecciones urinarias con 24% en pacientes con catéteres urinarios de tiempo corto, y 14% en pacientes con catéteres urinarios de tiempo largo(Engleberg et al., 2013; Riedel et al., 2019).

Dentro de *Escherichia coli* existen diversos tipos de cepas las cuales resultan de gran importancia clínica, debido a los síndromes y enfermedades que provocan en una población, dentro de estos los más reconocidos son:

- *E. coli* entero toxigénica (ECET)
- *E. coli* entero patogénica (ECEP)
- *E. coli* entero hemorrágica (ECEH)
- *E. coli* entero invasora (ECEI)
- *E. coli* entero agregativa (ECEA) (Tortora et al., 2017).



- *Klebsiella pneumoniae*

**Taxonomía**

DOMINIO	: Bacteria
REINO	: Monera
PHYLUM	: Proteobacteria
CLASE	: Gamaproteibacterias
ORDEN	: Enterobacteriales
FAMILIA	: Enterobacteriácea
GENERO	: <i>Klebsiella</i>
ESPECIE	: <i>Klebsiella pneumoniae</i>

**Fuente:** Charca (2019).

**Características morfológicas y estructurales**

*K. pneumoniae* es un bacilo Gram negativo de 2 a 3 por 0.4 a 0.6  $\mu\text{m}$ , con capsula; no forman esporas; no móviles; forman colonias mucoides; son aerobios y anaerobios facultativos; se han identificado un total de 5 antígenos “O”, antígenos flagelares “H” y 72 antígenos capsulares constituidos por polisacáridos esto da a las colonias su aspecto mucoide, brillante y forma la base para el sistema de serotipificación; producen pruebas positivas para lisina descarboxilasa y citrato (Riedel et al., 2019; Tártara, 2013).



## Epidemiología y patogenia

*Klebsiella pneumoniae* está presente en el sistema respiratorio y en las heces de casi un 5% de personas sanas, a su vez produce una pequeña proporción (alrededor de 1%) de las neumonías bacterianas. *K. pneumoniae* se encuentran entre las 10 bacterias más patógenas causantes de infecciones intrahospitalarias. La tipificación de la secuencia de muchos sitios ha identificado el surgimiento global de dos clones de particular importancia debido a que son productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) (Llop et al., 2001; Reyes et al., 2020; Riedel et al., 2019).

Además de la resistencia a un conjunto amplio de penicilinas y cefalosporinas esta bacteria presenta incluso una variante la cual es “productora de carbapenamasa”, por ende, esta resistencia a todos los antibióticos betalactámicos, incluidos los carbapenémicos de amplio espectro, es importante en las infecciones nosocomiales, principalmente en bacteriemias con 7%, tracto respiratorio (8%) y del tracto urinario (8%) (Llop et al., 2001; Soria et al., 2021).



- **Genero Yersinia**

***Taxonomía***

DOMINIO	: Bacteria
REINO	: Monera
PHYLUM	: Proteobacteria
CLASE	: Gamaproteibacterias
ORDEN	: Enterobacteriales
FAMILIA	: Yersiniaceae
GENERO	: <i>Yersinia</i>

**Fuente:** Larico (2022).

**Características morfológicas y estructurales**

Dentro de esta familia se tiene a 11 especies, las cuales han sido aisladas de muestras clínicas, son cocobacilos Gram negativos; móviles a 22°C e inmóviles a 37°C; con flagelos peritricos o anfitricos; forman pili y fimbrias; tienen capsula de poco espesor; no forman esporas; las especies más importantes son: *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* y *Y. enterocolitica* las cuales son perjudiciales para la salud del hombre. Las enfermedades causadas por estas, son consideradas zoonóticas, debido a que afectan principalmente a pájaros, roedores y otros animales, siendo el hombre un hospedero accidental (Leiva et al., 2018; Llop et al., 2001; Romero et al., 2018).



Las *Yersinia* son bacterias aerobias o anaerobias facultativas; fermentadoras positivas; catalasas positivas; producen gas en ocasiones; son ureasas positivas; lactosas negativas y oxidasas negativas. En cultivos a 22°C se ha demostrado que produce una enterotoxina semejante a la de *Escherichia coli*, misma que no se encuentra al cultivarla a 37°C. En cuanto a los aspectos antigénicos cuenta con antígeno somático “O”, lípido “A” (endotoxina) antígeno “H” flagelar (34 serotipos para *Y. enterocolitica* y 6 serotipos para *Y. pseudotuberculosis*), entre los que hay serotipos patógenos y no patógenos (Larico, 2022; Lopardo et al., 2017).

### **Epidemiología y patogenia**

La mayoría de las infecciones producidas por *Yersinia* son zoonóticas (fecal-oral), mediante la contaminación de agua, alimentos y carnes; *Y. enterocolitica* es transmitida por mamíferos silvestres, puercos, bovinos, animales domesticos; *Yersinia pestis* mediante la picadura de pulgas, mientras que en otras estaciones la infección aparece por contacto directo (personas a persona), como sucede en brotes nosocomiales. Otros tipos de *Yersinia* ocasionan gastroenteritis (diarrea acuosa agua o diarrea crónica) o sepsis transmitida por sangre o transfusiones (Leiva, et al., 2018).

Tienen alta predisposición a infección sistémica en personas con sobrecarga de hierro, hemosiderosis, multitransfundidos, con cirrosis hepática o diabéticos. Existe una relación entre la infección y la poliartritis no supurativa y la tiroiditis por autoinmunidad (Rípodas et al., 2017).



## B. Genero *Staphylococcus*

### *Taxonomía*

DOMINIO	: Bacteria
REINO	: Procariotae
PHYLUM	: Firmicutes
CLASE	: Bacili
ORDEN	: Baciliales
FAMILIA	: Micrococcaceae
GENERO	: <i>Staphylococcus</i>

**Fuente:** Charca (2019).

### **Característica morfológica y estructural**

Los estafilococos pertenecen a los cocos grampositivos aerobios (pero son anaerobios facultativos); poseen forma esférica, no móviles y la ausencia de endosporas. La ausencia o presencia de catalasa es una prueba sencilla que se utiliza para subdividirla en varios géneros. Las catalasas son enzimas que convierten el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno gaseoso en las cuales aparecen burbujas a medida que se forma oxígeno gaseoso, siendo considerados catalasa positivos (*Staphylococcus*, *Micrococcus* y microorganismos relacionados); mientras que los géneros aerobios catalasa-negativos corresponderían a *Streptococcus*, *Enterococcus* y microorganismos relacionados y también agruparía a los





cocos anaerobios grampositivos (Lopardo et al., 2017; Murray et al., 2021).

El nombre del género *Staphylococcus* refiere a que llevan un patrón de “racimo de uvas” del griego “staphyle”, sin embargo, los microorganismos presentes en muestras clínicas aparecen como células aisladas, en pares o en cadenas cortas. La mayor parte de los estafilococos tienen un diámetro de entre 0.5 y 1.5  $\mu\text{m}$ , inmóviles aeróbios y anaeróbios en presencia de una elevada concentración de sal (Cloruro sódico al 10%) y a temperaturas de 18-40°C. Son parte de la flora normal de la piel y mucosas; algunas especies como: *Staphylococcus aureus* coloniza las narinas anteriores, *Staphylococcus capitis* crece en regiones con glándulas sebáceas (como la frente)(Larico, 2022; Lopardo y Garrahan, 2016).

Asimismo, los *Staphylococcus* pueden provocar diversas patologías por su capacidad de replicación y extenderse debido a que producen catalasa, *S. aureus* también produce coagulasa, una proteína semejante a una enzima que coagula el plasma oxalado o citratado. La coagulasa se une a la protrombina; en conjunto puede volverse enzimáticamente activa e iniciar la polimerización de fibrina (Herrero, 2020; Riedel et al., 2019).

### **Epidemiología y patología**

Los *Staphylococcus* son un importante grupo de patógenos siendo capaces de originar enfermedades sistémicas de riesgo para la salud, como infecciones de la piel, los tejidos blandos, el aparato genitourinario e infecciones oportunistas. Siendo *S. aureus* (el miembro más virulento, con



capacidad de formar coagulasa lo cual la distingue de las demás especies menos virulentas) (Kenneth y Ray, 2021), *Staphylococcus epidermidis*, *S. haemolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis* y *Staphylococcus* (Bush, 2022; Murray et al., 2021).

Todas las personas portan estafilococos coagulasa negativos como flora autóctona en la piel, y es frecuente la colonización transitoria de los pliegues cutáneos húmedos con *S. aureus*, asimismo el 75% de infecciones causadas por estafilococos coagulasa negativa tienen como agente etiológico a *S. epidermidis* siendo esta la más prevalente (Castellano et al., 2018; Larico, 2022).

- ***Staphylococcus aureus***

***Taxonomía***

DOMINIO : Bacteria

REINO : Procariotae

PHYLUM : Firmicutes

CLASE : Bacili

ORDEN : Baciliales

FAMILIA : Micrococcaceae

GENERO : *Staphylococcus*

ESPECIE : *Staphylococcus aureus*

**Fuente:** Larico (2022).



## Características morfológicas y estructurales

*S. aureus* coco anaerobio facultativo, Gram positiva conocida como estafilococo dorado debido a que en la incubación en agar sangre, las colonias se tornan de un color crema-dorado (Ripodas, *et al.*, 2017). Producen coagulasa, que permite a la bacteria coagular el plasma sanguíneo (coagulasa positiva), en los cultivos en desarrollo, son de tamaño regular uniéndose en racimos con precisión de bolas de billar (en medios de cultivo crece en 18 a 24h). La mayoría de las cepas, aunque no todas, muestran un halo beta-hemolítico transparente que rodea la colonia (Cervantes *et al.*, 2014; Kenneth y Ray, 2021; Tortora *et al.*, 2017).

## Epidemiología y patología

*S. aureus* es habitante normal de la piel y las mucosas (es un patógeno oportunista humano y una de las mayores causas de infecciones agudas y piogénicas). Aproximadamente un 20% de la población es portadora permanente de *S. aureus* en las fosas nasales y 30% está de manera intermitente (De la Rosa, *et al.*, 2015). Por ello los portadores pueden ser una fuente de infección para ellos mismos y para otros, por ejemplo, por contacto directo o contaminación de fómites (objetos como el pomo de una puerta, que puede ser fuente de infección) y alimentos, que luego pueden causar intoxicación alimentaria (Engleberg *et al.*, 2013).

La cantidad de portadores es mayor en ciertos grupos de población como personal sanitario, residentes en instituciones, adictos a drogas parenterales, diabéticos, etc. Pueden originarse brotes hospitalarios de infección por transmisión del microorganismo a través de las manos del



personal sanitario desde un paciente colonizado o infectado a otros pacientes. Asimismo, los factores de virulencia son las características genéticas, bioquímicas y estructurales que permiten que un microorganismo cause enfermedades. El resultado clínico de una infección depende de la virulencia del patógeno y la eficacia del mecanismo de defensa del hospedero. Para la mayoría de las enfermedades causadas por *S. aureus*, la patogenia depende de las acciones combinadas de varios factores de virulencia, por lo que es difícil determinar con precisión la función de cualquier factor dado (De la Rosa et al., 2015; Samaniego y Choez, 2021).

### C. Genero *Streptococcus*

#### *Taxonomía*

DOMINIO	: Bacteria
REINO	: Procariotae
PHYLUM	: Firmicutes
CLASE	: Bacilli
ORDEN	: Lactobacillales
FAMILIA	: Streptococcaceae
GENERO	: <i>Streptococcus</i>

**Fuente:** Larico (2022).



## Características morfológicas y estructurales

Las bacterias del género *Streptococcus* se caracterizan por ser cocos Gram positivos que se agrupan en cadenas, miden de 0.5 a 1.25  $\mu\text{m}$ ; forman colonias en forma de disco de 0.5 a 2.0 mm, son mucosas de color mate, las hay también lisas y rugosas; son anaerobios facultativos; fermentan glucosa, maltosa, lactosa, sacarosa; producen ácido láctico; la capsula tiene ácido hialurónico; la pared celular tiene proteínas y la membrana tiene lípidos y glucosa; su capacidad antigénica está constituida por : Carbohidratos C, proteínas M, antígenos T y R; producen estreptolisina O, estreptolisina S, toxinas antigénicas A, B y C; hialuronidasa, amilasa y estearasa. Dentro de este género existen más de 20 especies siendo las más importantes *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *S. agalactiae*, *S. faecalis* y el grupo *Viridans* (Arredondo y Villicaña, 2013; Lopardo et al., 2017).

Estas poseen distintos antígenos polisacáridos en la pared celular que permiten su clasificación en grupos serológicos (A, B, C, D, etc.). En medios de cultivo que contienen sangre, algunas especies de estreptococos producen hemolisis o destrucción total de los hematíes que se denomina beta hemolisis y se evidencia por la producción de un halo transparente (ausencia de hematíes) alrededor de las colonias. Otras especies producen alfa hemolisis la cual es la aparición de un halo de color verdoso alrededor de la colonia, gracias a esto es que por el tipo de hemolisis en medios de agar sangre permite clasificar a los estreptococos en betahemolíticos (producen hemolisis parcial) y no hemolíticos (estreptococos que no



producen hemólisis) (Arredondo y Villicaña, 2013; OPS, 2017; Riedel et al., 2019).

### **Epidemiología y patogenia**

*S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *S. agalactiae*, *S. faecalis* y el grupo *Viridans*, siendo los más importantes en el ámbito clínico, llegan a producir desde neumonías, infecciones piogénicas, faringitis, meningitis, impétigo, infecciones profundas de tejidos blandos, bacteriemia, fiebre reumática, glomerulonefritis, choque tóxico, sepsis neonatal, entre otros (Bush, 2022).

La familia de los estreptococos solo tiene importancia en las infecciones nosocomiales del tracto respiratorio lo que representa entre 3-8% (Lopardo et al., 2017).

#### - *Streptococcus pneumoniae*

#### ***Taxonomía***

DOMINIO	: Bacteria
REINO	: Procariotae
PHYLUM	: Firmicutes
CLASE	: Bacili
ORDEN	: Lactobacillales
FAMILIA	: Streptococcaceae
GENERO	: <i>Streptococcus</i>
ESPECIE	: <i>Streptococcus pneumoniae</i>

**Fuente:** Lopardo y Garrahan (2016).



## Características morfológicas y estructurales

Son cocos Gram positivos inmóviles encapsulados. Tienen forma de lanceta y su tendencia a aparecer en pares *S. pneumoniae* o neumococo (palabra derivada del griego pneumon=pulmón y kokkos=grano) es un estreptococo alfa hemolítico; morfológicamente, en la tinción de Gram aparecen como diplococos Gram positivos alargados. Los neumococos experimentan lisis en forma rápida por compuestos con actividad en la superficie, lo cual probablemente elimina o inactiva a los inhibidores de las autolisinas de la pared celular, siendo residentes normales de las vías respiratorias altas en un 5 a 40% de los seres humanos y pueden causar neumonía, sinusitis, otitis, bronquitis, bacteriemia y otros procesos infecciosos (De la Rosa et al., 2015; Nau y Metzgar, 2020; Pasachova et al., 2019).

La mayoría de los neumococos presentan una capsula de polisacáridos de gran tamaño que les confiere una mayor virulencia y les sirve de protección frente a los mecanismos defensivos del huésped, es debido a que algunas cepas producen grandes cantidades de capsulas (De la Rosa et al., 2015; Soria et al., 2021).

## Epidemiología y patogenia

Es considerado como un parásito obligado de los seres humanos y se puede encontrar en la nasofaringe de muchos individuos sanos. Es extremadamente sensible a los factores ambientales, el *S. pneumoniae* produce enfermedad debido a su alta capacidad de multiplicarse en los tejidos, es de gran importancia por representar la microbiota nasofaríngea



y orofaríngea en 20% de niños y 5% de adultos. En algunas personas no sobrepasa las mucosas orofaríngeas, formando parte de su microbiota normal; en otras por el contrario invade tejidos más profundos produciendo enfermedad; neumonía neumocócica, meningitis neumocócica; la susceptibilidad a esta infección puede darse a un debilitamiento general (desnutrición o alcoholismo) (Macias et al., 2019; Riedel et al., 2019).

El factor de virulencia más resaltante de *S. pneumoniae* es la capsula bacteriana, la cual es importante en la clasificación de sus serotipos. Las enzimas asociadas con las células neumolisina y autolisina contribuyen con su patogenicidad; la virulencia del microorganismo depende de su cápsula, lo cual evita o retarda la ingestión a cargo de los fagocitos. Un suero que contiene anticuerpos contra polisacárido específico y protege contra la infección. Si tal suero se absorbe con el polisacárido específico, pierde su potencia protectora (Larico, 2022; Riedel et al., 2019; Rodríguez et al., 2016; Zendejas et al., 2014).

#### **2.2.6. Desinfección de superficies y equipos**

Se le denomina desinfección al proceso el cual elimina microorganismos en objetos e instrumentos inanimados, donde el grado de desinfección va acorde a la calidad y la carga bacteriana presente en una determinada superficie (Carhuachunchay y Sandoval, 2018; Garro y Quispe, 2014).

#### **2.2.7. Antibióticos**

**A. Penicilinas.** Derivan de mohos del género *Penicillium*, la más usada es la penicilina G cuya estructura básica es el anillo 6-aminopenicilánico, cuya





función es la de adherirse a receptores celulares inhibiendo la síntesis de peptidoglucano (se bloquea la transpeptidación), dentro de estos se encuentran los fármacos como: penicilina G, oxacilina, ampicilina, amoxicilina, entre otros. En la amoxicilina más ácido clavulánico y ampicilina/sulbactam, ayuda a inhibir las beta-lactamasas. Actúa frente a Gram positivos y negativos (Altamirano, 2016).

- B. Cefalosporinas.** Son producidas por hongos del género *Cephalosporium*, están compuestos B-lactámicos con un núcleo de ácido 7-aminocefalosporánico, naturalmente su capacidad antibacteriana es reducida, sin embargo, la adición de grupos laterales R da como resultado la proliferación de fármacos. Este antibacteriano se une a las proteínas fijadoras de  $\beta$  lactámicos (sirven como receptores), inhibiendo la síntesis de pared celular (se bloquea la transpeptidación), y activan enzimas autolíticas en la pared celular (provoca muerte bacteriana). Entre las cuales encontramos los de: primera generación (cefazolina, cefalexina, cefadroxilo, cefalotina), segunda generación (cefuroxima, cefaclor, cefoxitina, cefmetazol), tercera generación (cefotaxima, ceftriaxona, ceftacidima, cefoperazona, entre otros) y los de cuarta generación (cefepima, cefpirome, ceftazolina y ceftobiprol) (Kenneth y Ray, 2021).
- C. Monobactámico.** Tiene un anillo  $\beta$  lactámico monocíclico, son resistentes a  $\beta$  lactamasas (aztreonam), actúan frente a bacilos Gram negativos cuando se unen a la PBP3 (proteínas de unión a penicilinas), pero no contra Gram positivos, ni anaerobios. Es similar a los aminoglucósidos (Kenneth y Ray, 2021).



- D. Carbapenémicos.** Es similar estructuralmente a los  $\beta$  lactámicos. Actúa frente a bacilos Gram negativos, Gram positivos y anaerobios. Dentro de estos el meropenem no es inactivado por las dipeptidasas, como el imipenem (Kenneth y Ray, 2021).
- E. Tetraciclinas.** Comprende a tetraciclinas y doxiciclina. Actúan frente a bacterias sensibles como *Rickettsias*, clamidias y *Mycoplasma*, en algunos casos frente a *Brucella*, *Yersinia* y *Francisella* e inhiben la síntesis de proteínas al impedir la unión del aminoacil-tRNA con la subunidad 30S de los ribosomas bacterianos, también inhiben a Gram positivos como Gram negativos sensibles (Kenneth y Ray, 2021).
- F. Macrólidos.** Comprende a la eritromicina, azitromicina y claritromicina, los cuales se adhieren a un receptor (rRNA 23S) en la subunidad 50S del ribosoma bacteriano, también inhiben la síntesis de proteínas al interferir con las reacciones de traslocación y la formación de complejos de iniciación. Actúa frente a bacterias Gram positivas incluidas neumococos, estreptococos y corinebacterias, entre otros, así como frente a *H. influenzae*, *Salmonella*, *Helicobacter pylori*, *C. jejuni*, *Moraxella catarrhalis* y *N. gonorrhoeae* (Riedel et al., 2019).
- G. Clindamicina y lincomicina.** Su acción es similar al de la eritromicina, con sitio receptor en los ribosomas, así la clindamicina es activa frente a bacteroides y otros anaerobios (Kenneth y Ray, 2021).
- H. Glucopéptidos, lipopeptidos y lipoglucopeptidos.** La vancomicina es producida por un hongo (*Streptomyces orientalis*), es bactericida para estafilococos, algunos clostridios y ciertos bacilos, inhibe las primeras



fases de las síntesis de peptidoglucano en la pared celular. También se encuentran la teicoplanina y la daptomicina (Kenneth y Ray, 2021).

- I. **Bacitracina.** Es un polipéptido obtenido a partir de la cepa Tracy de *Bacillus subtilis*, es bactericida frente a Gram positivas, incluidos los estafilococos resistentes a penicilina (nefrotóxica, ocasiona proteinuria y hematuria) (Riedel et al., 2019).
  
- J. **Aminoglucósidos.** Son fármacos que comparten diversas características químicas, antimicrobianas, farmacológicas y tóxicas, como la estreptomina, neomicina, kanamicina, amikacina, gentamicina, entre otros; inhiben la síntesis proteínica de las bacterias al unirse a la subunidad 30 S del ribosoma bacteriano e inhibir su función; actúan frente a bacterias Gram negativas del tubo digestivo, producen bacteriemia o endocarditis por estreptococos, enterococos o algunas bacterias Gram negativas. Destacan la amikacina, la cual es más resistente que la gentamicina, actuando frente a *Proteus*, *Serratia* y *Pseudomonas* siendo ineficaz contra estreptococos y bacteroides (Riedel et al., 2019).
  
- K. **Quinolonas.** Son análogos sintéticos del ácido nalidíxico, actúan inhibiendo la síntesis del DNA bacteriano al bloquear la DNA girasa y la topoisomerasa IV, dentro de las primeras quinolonas tenemos al ácido nalidíxico, ácido oxolínico, cinoxacina y entre los derivados fluorados a ciprofloxacino, norfloxacina y otras. Las fluoroquinolonas son activos contra enterobacterias, incluidas a las que son resistentes a cefalosporinas de tercera generación (*Haemophilus*, *Neisserias*, *Clamidias* y otras); en Gram positivos su reacción es variable (Kenneth y Ray, 2021).



**L. Sulfonamidas y trimetoprim.** Su mecanismo básico de acción es la inhibición competitiva de la utilización de PABA (ácido para amino benzoico), inhibe los pasos metabólicos secuenciales y quizá tiene sinergia antibacteriana (entre sulfonamidas y trimetoprim), son bacteriostáticas para Gram negativas y positivas, clamidias, nocardias y protozoarios (Kenneth y Ray, 2021).

### **2.2.7. Resistencia antibacteriana**

Se denomina resistencia antibacteriana, cuando un antimicrobiano no es capaz de eliminar una infección causada por una bacteria, por la aparición de cepas resistentes a su acción. Ningún agente antibacteriano inhibe todas las bacterias y la capacidad de presentar algún tipo de resistencia antibacteriana es una propiedad inherente a prácticamente todas las bacterias, debido a mutación o adquisición de nuevos genes (Quispe, 2020; Tortora et al., 2017).

### **2.2.8. Mecanismo de resistencia antimicrobiana**

Los mecanismos por los cuales las bacterias desarrollan resistencia y como se propaga dicha resistencia son de gran interés para continuar utilizando los fármacos actuales y para desarrollar estrategias en la creación de nuevos antimicrobianos. Asimismo, se conoce que las bacterias cuentan con resistencia natural (*Pseudomonas aeruginosa*, es resistente a la penicilina, etc), resistencia adquirida (un microorganismo sensible se vuelve resistente a un antimicrobiano debido al uso masivo y abuso del mismo), resistencias transmisibles (los microorganismos resistentes pueden transmitir esta resistencia a otros microorganismos sin necesidad que sean sus descendientes), todo ello gracias a



diversos mecanismos de transferencia de material genético como (Kenneth y Ray, 2021; Riedel et al., 2019):

- Producción de enzimas inactivantes que destruyen el antimicrobiano tales como betalactamasas, resistencia de Gram negativas a aminoglucósidos mediante plásmido (adeniladoras, fosforiladoras o acetiladoras) (Riedel et al., 2019).
- Alteración de la pared celular o membrana que impide la penetración del antibiótico, a través de la alteración de la permeabilidad (cambio de la membrana externa, la cual daña el transporte activo hacia el interior de la célula) (Riedel et al., 2019).
- Alteración de la diana sobre la que actúan los antimicrobianos (proteínas o procesos esenciales como: alteración en la ARN polimerasa, ribosoma, ADN girasa) (Riedel et al., 2019).
- Generación de bombas de expulsión, transporte de antibióticos fuera de la célula; muchos Gram positivos y en particular Gram negativos, presentan este mecanismo contra tetraciclinas, macrólidos, fluoroquinolonas, incluso  $\beta$ -lactámicos (Riedel et al., 2019).

Además, ahora existe un fenómeno llamado multirresistencia en la cual una bacteria adquiere simultáneamente resistencia a distintos tipos de antimicrobianos: resistencia cruzada homóloga, presente frente a un grupo de antimicrobianos de estructura química semejante (resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a penicilinas y cefalosporinas por producción de betalactamasas muy activas, o alteración en la diana, *Staphylococcus aureus* resistente a todos los betalactámicos por una mutación en su diana de la pared celular), los cuales suelen



deberse a un mecanismo de inactivación de ese grupo de antimicrobianos (Kenneth y Ray, 2021; Madigan et al., 2015; Riedel et al., 2019).

### **2.2.9. Mecanismos de resistencia en bacilos Gram negativos**

Los principales antibióticos utilizados son quinolonas, aminoglucósidos, tetraciclinas y especialmente los  $\beta$ -lactámicos (Riedel et al., 2019).

#### **A. $\beta$ -lactámicos**

Dada la amplia disponibilidad y baja toxicidad es que los  $\beta$ -lactámicos han sido el pilar del tratamiento frente a bacilos Gram negativos y los mecanismos de resistencia a éstos (Riedel et al., 2019), incluyen:

- Alteración del sitio blanco de acción, mediante producción de proteínas de unión a penicilinas (PBPs) adicionales; modificaciones estructurales en las PBPs generando una enzima con baja afinidad por el antibiótico (Riedel et al., 2019).
- Trastornos de la permeabilidad, donde la mutación deficiente en porinas de la membrana externa genera resistencia (Riedel et al., 2019).
- Bombas de eflujo que expulsan el fármaco de la bacteria (del espacio periplásmico al exterior a través de la membrana externa) (Riedel et al., 2019).
- Hidrolisis enzimática del antibiótico mediada por  $\beta$ -lactamasas, es el mecanismo de resistencia más reconocido en bacilos Gram



negativos (genera hidrolisis enzimática de penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos) (Riedel et al., 2019).

Las  $\beta$ -lactamasas se dividen según clasificación molecular en: A, B, C y D, donde A, B y D son enzimas serinas, debido a la presencia de esta en el sitio activo (mediadora de la reacción de hidrolisis); las enzimas clase B en cambio cuentan con una o dos moléculas de zinc en el sitio activo (las moléculas de zinc atacan al grupo carboxilo y amino de los  $\beta$ -lactámicos a excepción del aztreonam que es un monobactámico) (Riedel et al., 2019). En general las  $\beta$ -lactamasas se clasifican en:

- **Penicilinasas.** Clase A, conocidas como TEM-1, TEM-2 y SHV-1 (B-lactamasas de amplio espectro) son resistentes a aminopenicilinas, carboxipenicilinas y ureodopenicilinas, siendo sensibles a cefalosporinas, monobactámicos y carbapenémicos, y si se incorpora ácido clavulánico y sulbactam (Riedel et al., 2019).
- **$\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE).** Clase A, conocida como TEM, SHV, CTX-M. Hidroliza y causa resistencia a penicilinas, cefalosporinas (excepto cefoxitina) y monobactámicos. Asimismo, CTX-M hidroliza cefotaxime y cefepime (Riedel et al., 2019).
- **$\beta$ -lactamasas tipo AmpC.** Son cefalosporinasas cromosómicas, clase C, hidrolizan cefalosporinas de primera y segunda generación. Se da de manera constitutiva (no inducible) expresión baja, pero si son hiperproducidas confieren mayor resistencia a  $\beta$ -



lactámicos exceptuando a la cefoxitina, cuarta generación de cefalosporinas y carbapenémicos (Riedel et al., 2019).

- **Carbapenemasas.** Hidrolizan todos los betalactámicos y carbapenémicos. Las enzimas están codificadas en el cromosoma y elementos móviles (A: KPC [*Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa], GES [Guyana de espectro extendido], SME [enzima de *Serratia marcescens*], IMI [betalactamasa no hidrolizante de imipenem], y D: OXA [betalactamasas tipo oxacilinasas],) y metalobetalactamasas (B: VIM, IMP) depende del zinc (Riedel et al., 2019).

- B. Aminoglucósidos.** Se da por inactivación enzimática mediante acetiltransferasas (AAC), fosfotransferasas (APH) y nucleotidiltransferasas (ANT), como se ve en la Tabla 1 (Riedel et al., 2019).



**Tabla 1***Enzimas modificadoras de sensibilidad a aminoglucósidos*

Enzima	Estreptomicina	Gentamicina	Amikacina
Acetiltransferasas (AAC)			
AAC-6'	-	-	+
AAC-2'	-	+	-
AAC-3'	-	+	-
Fosfotransferasas (APH)			
APH-3'	-	-	+
APH-2'	-	+	+
APH-3''	+	-	-
APH-6	+	-	-
Adeniltransferasas (ANT)			
ANT-2''	-	+	-
ANT-4'	-	-	+

**Nota:** AAC: aminoglucósido-adeniltransferasas, APH: aminoglucósido-fosfotransferasas, ANT: adeniltransferasas

**Fuente:** Stearns et al. (2019)

### C. Quinolonas

La resistencia en quinolonas es debido a mutaciones en genes de las enzimas topoisomerasas II (ADN girasa) y IV, debida a genes como el *gyrA* y *gyrB* en la de tipo II, y *parC* y *parE* en la de tipo IV. Estas suceden en las regiones determinantes de resistencia a quinolona (QRDR). Asimismo, la producción de bombas de expulsión o alteración de porinas asociadas a mutaciones en las topoisomerasas y resistencia a través de plásmidos se da mediante proteínas de resistencia a quinolonas (Qnr) la cual protege a la DNA girasa, también está la enzima modificante de aminoglucósidos (Aac) con resistencia cruzada y un sistema de flujo (Stearns et al., 2019).



#### **D. Trimetoprim-sulfametoxazol**

Su administración bloquea secuencias de la ruta sintética para el ácido tetrahidrofólico, la síntesis de ácido paraaminobenzoico (PABA), la mutaciones y mecanismo enzimáticos en plásmidos, produce la resistencia en sulfonamidas. El trimetoprim actúa luego de la sulfonamida inhibiendo el dihidrofolato reductasa bacteriana; pero puede alterarse por hiperproducción de enzimas codificadas (plasmídica o cromosomal) (Riedel et al., 2019; Stearns et al., 2019).

#### **2.2.10. Mecanismos de resistencia en Cocos Gram positivos**

La resistencia antimicrobiana está asociada a cambios estructurales, componentes citosólicos como ribosomas siendo los géneros más representativos *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.* y *Streptococcus spp.*

##### ***Staphylococcus spp***

Entre algunos mecanismos de resistencia se puede mencionar:

- Resistencia a penicilina. Se da por producción de penicilinasas (B-lactamasas de clase A), pero no hidrolizan a las penicilinas sintéticas, oxacilina, meticilina, cefalosporinas o carbapenémicos (Kenneth y Ray, 2021).
- Resistencia a meticilina. Dada por adquisición del gen *mecA* el cual codifica PBP2a y debida a su baja afinidad por  $\beta$ -lactámicos le permite sintetizar peptidoglucano aun en presencia de antibiótico, a excepción de las cefalosporinas de quinta generación que tienen afinidad a la PBP2a.



También existen algunas cepas de *S. aureus* con resistencia borderline a la oxacilina (BORSA) (Kenneth y Ray, 2021).

- Resistencia a antibióticos del grupo MLSB (macrólidos, lincosamidas y estreptogramina B). Dada por modificación de la diana blanco o expresión de bombas de expulsión que producen fenotipos de resistencia como: Fenotipo constitutivo MLSB (cMLSB), debido al gen *erm* el cual codifica metilasas que actúan en la subunidad 23S ARNr e impide la unión de antibióticos a su diana; mecanismo inducible MLSB (iMLSB), se da cuando la eritromicina induce la resistencia a la clindamicina y se forma un D test positivo; MSb, sensible a clindamicina mediado por genes *msrA*, *mef* o *erp* a través de bombas de eflujo (Stearns et al., 2019)
- Resistencia a quinolonas. Asociada a mutaciones genéticas que codifican las dianas de acción del antibiótico (topoisomerasa IV: GrIA y GrIB; ADN-girasa: GyrA y GyrB) o expulsión activa por mutación en el *norA* (Stearns et al., 2019).
- Sensibilidad disminuida a glucopéptidos. En *S. aureus* se da SARM con CMI bajo para vancomicina a pesar de ser sensible o sensible intermedio no garantiza un tratamiento adecuado. Esta resistencia se da por el gen *vanA* integrado al transposon 1546 desde *E. faecalis*, que permite que se siga generando peptidoglicano (Stearns et al., 2019).



### *Streptococcus pneumoniae*

Algunos mecanismos de resistencia son:

- Resistencia a  $\beta$ -lactámicos. Donde hay fenotipos tanto resistentes como sensibles a penicilina y cefotaxima. La oxacilina ayuda a diferenciar entre ambos, las mutaciones en PBP1a, 2b y 2x dan resistencia a betalactámicos; la PBP2b resistencia a la penicilina y la PBP1a y PBP2x relacionada a cefalosporinas (Kenneth y Ray, 2021).
- Resistencia a MLSB. Al igual que en estafilococos se da por modificación enzimática de la diana ribosómica erm, por bombas de expulsión activa mef (mefE, mefA, mefL) y por alteración en genes L4 y L22 o RNAr el cual modifica el blanco ribosomal de estos antibióticos (Kenneth y Ray, 2021).
- Resistencia a quinolonas. Acorde a fenotipos sensibles, de bajo y alto nivel (resistencia a norfloxacino, ciprofloxacino, levofloxacino), según QRDR (región determinante de resistencia a quinolonas) en la topoisomerasa IV, como en DNA girasa y bombas de expulsión (Kenneth y Ray, 2021).

### *Streptococcus pyogenes*

No hay descripción para resistencia a penicilinas. El fenotipo más frecuente es el MLSB mediado por gen erm (Kenneth y Ray, 2021).



### ***Enterococcus spp.***

El más usual es *E. faecalis* susceptible a ampicilina y *E. faecium* resistente a ampicilina y vancomicina (Kenneth y Ray, 2021). Asimismo, hay otros mecanismos entre los cuales están:

- Resistencia a  $\beta$ -lactámicos. Es una alteración por PBP5 o PBP4, hiperproducción y modificación de estos. Proporciona resistencia a penicilinas, amino y ureidopenicilinas por producción de  $\beta$ -lactamasas, pero son susceptibles a imipenem e inhibidores  $\beta$ -lactámicos (Kenneth y Ray, 2021).
- Resistencia a glucopéptidos. Es intrínseca, da resistencia a vancomicina. Es susceptible a ampicilina (cromosomal e intransferible), *Enterococcus gallinarum* (gen vanC1), *Enterococcus casseliflavus* (gen van C2) y *Enterococcus flaccescens* (gen vanC3); es adquirida, por fenotipo Van A la cual proporciona resistencia a vancomicina y teicoplanina (frecuente en *Enterococcus spp.*) (Kenneth y Ray, 2021).
- Resistencia a aminoglucósidos. Resistencia intrínseca de bajo nivel por deficiencia en el transporte antibiótico; adquirida, por producción de enzimas modificadoras como acetiltransferasas, nucleotidiltransferasas o fosfotransferasas. La resistencia a estreptomina no confiere resistencia a otros agentes, en cambio la resistencia a gentamicina sí lo hace (resistencia no cruzada) (Kenneth y Ray, 2021).

Por todos estos mecanismos de resistencia ya sean para bacterias Gram positivas o Gram negativas, también existen indicadores para determinar la resistencia de bacterias patógenas, ello mediante el uso de antibióticos, como se muestra en la Tabla 2 (Stearns et al., 2019).

**Tabla 2**

*Antibióticos indicadores de mecanismos de resistencia específicos para bacterias patógenas*

<b>Microorganismo</b>	<b>Resistencia a</b>	<b>Inferencia o interpretación</b>
<i>Staphylococcus</i>	Oxacilina / meticilina, cefoxitina	Resistencia a todos los $\beta$ -lactámicos (excepto cefalosporinas de quinta generación)
<i>Staphylococcus</i>	Eritromicina	Posible fenotipo iMLSB o MSB, si presenta sensibilidad a clindamicina realizar D-test (evitar su uso hasta confirmar)
<i>Staphylococcus</i>	Eritromicina, clindamicina, sb	MLSB constitutiva
<i>S. pneumoniae</i>	Oxacilina*	Usar cefalosporinas
<i>Klebsiella / E. coli</i>	CAZ, CRO**	BLEE, evitar cefalosporinas
Enterobacterias	Cefalexina, Cefoxitina***	$\beta$ lactamasas de tipo AmpC
Enterobacterias	Ampicilina, Piperacilina	$\beta$ -lactamasas de amplio espectro
Enterobacterias	Ácido nalidíxico y ciprofloxacino	Mutaciones en el gira + parc, implica resistencia a todas las fluoroquinolonas.

**Nota:** iMLSB: mecanismo inducible de macrólidos, lincosamidas y streptogramina B, MLSBc: mecanismo constitutivo de macrólidos, lincosamidas y streptogramina B, AmpC (cromosómico), CAZ: Cefotaxima; CRO: Ceftriaxona; SB: Estreptogramina B. \*La oxacilina predice la resistencia de estafilococos a todos los  $\beta$ -lactámicos y de *S. pneumoniae* a la penicilina. \*\*La resistencia a estos antibióticos debe alertar sobre BLEE, principalmente en enterobacterias como *E. coli* y *Klebsiella spp.* \*\*\*La resistencia a cefoxitina por parte de enterobacterias, debe advertir sobre la producción de AmpC y de esta manera, evitar utilizar cefalosporinas u otros  $\beta$ -lactámicos con potencial de inducir desrepresión

**Fuente:** Stearns et al. (2019)



## CAPITULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. AREA DE ESTUDIO

La presente investigación se realizó en el Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón II-2” – Puno, ubicado a 3827 metros sobre el nivel del mar, en el servicio de Laboratorio Clínico del departamento de Patología Clínica, donde las muestras de superficies y equipos fueron recolectadas mediante hisopado de superficies inertes y las muestras de aire mediante el método de sedimentación en placa, ambos de las distintas áreas de laboratorio clínico, durante los meses de diciembre 2021, enero, febrero y marzo del año 2022.

#### 3.2. TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN

El nivel de investigación fue descriptivo de tipo cuantitativo, analítico, prospectivo y de corte transversal, debido a que se estudió la calidad bacteriológica tanto de superficies como de ambientes en las diferentes áreas de laboratorio clínico del Departamento de Patología Clínica (bioquímica, hematología, microbiología y toma de muestra), determinando las bacterias presentes en dichos ambientes, asimismo se evaluó la resistencia bacteriana de ciertos tipos de bacterias.

#### 3.3. POBLACION Y MUESTRA

##### 3.3.1. Población

Correspondió a las superficies, equipos y ambientes intrahospitalarios de las áreas de bioquímica, hematología, microbiología y toma de muestra del servicio de laboratorio clínico del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón II-2 –

Puno. Se seleccionó el área de Laboratorio clínico debido a que es un servicio en donde se manipulan diversos tipos de muestras biológicas, por ende, es un área de riesgo por el nivel de manipulación, por lo que es necesario su estudio.

### 3.3.2. Muestra

Para muestra de superficies inertes y equipos se tomó en cuenta treinta puntos de muestreo, como se ve en la Tabla 3, siendo un muestreo al azar representando el 100% de la población, en las distintas áreas de laboratorio clínico (bioquímica, hematología, microbiología y toma de muestra) del departamento de patología clínica. El criterio de selección de muestra fue acorde al investigador, a fin de garantizar la relevancia de la presente investigación; asimismo, se tomó en cuenta, que superficies están más en contacto con el personal de salud y pacientes como mesas de trabajo, escritorio, área de limpieza, puertas de acceso, equipos, computadoras, manijas de equipos, etc.

**Tabla 3**

*Áreas de toma de muestra de superficies inertes de laboratorio clínico*

Área de muestreo	N° de puntos de muestreo	N° de repeticiones	Total
Bioquímica	8	3	24
Hematología	9	3	27
Microbiología	8	3	24
Toma de muestra	5	3	15
<b>TOTAL</b>	<b>30</b>		<b>90</b>

**Nota:** N°: número

**Fuente:** Elaboración propia

Para muestra de aire se tomó en cuenta cuáles eran los lugares más frecuentados por pacientes y personal salud, para lo cual se realizó muestreos de



6 puntos por ambiente, como se muestra en la Tabla 4, en donde el muestreo fue: uno en la entrada de aire o ventilación y el resto en torno al ambiente; realizando la toma de muestra mínimo a un metro de altura del piso en los mismos ambientes de patología clínica (bioquímica, hematología, microbiología y toma de muestra) (Rodríguez, 2013).

**Tabla 4**

*Áreas de toma de muestra de ambientes de laboratorio clínico*

Área de muestreo	N° de puntos de muestreo	N° de repeticiones	Total
Bioquímica	6	3	18
Hematología	6	3	18
Microbiología	6	3	18
Toma de muestra	6	3	18
<b>TOTAL</b>	<b>24</b>		<b>72</b>

**Nota:** N°: número

**Fuente:** Elaboración propia

### 3.3.3. Frecuencia de muestreo

Para la recolección de muestra de superficies inertes y equipos se realizó tanto en pre y post desinfección:

- Primer muestreo. Se realizó antes de que se realice la desinfección y limpieza adecuada (pre-desinfección), donde los ambientes sometidos a estudio “están más contaminados”.
- Segundo muestreo. Se realizó después de realizar la desinfección y limpieza (post-desinfección), donde el área presumiblemente este “menos contaminada”.



Para la toma de muestra de aire, se realizó tanto al inicio del turno de trabajo como al finalizar el turno diurno.

- Primer muestreo. Se realizó durante el turno diurno donde hay más afluencia de personal como de pacientes y en donde las áreas de laboratorio sometidas a estudio “están más contaminadas”.
- Segundo muestreo. Se realizó al finalizar el turno diurno donde hay menos afluencia de pacientes y personal de salud; y en la que el área de laboratorio presumiblemente esta “menos contaminada”.

Asimismo, dada la variabilidad a la que se puede estar sometido este procedimiento, se realizó tres repeticiones.

### **3.4. METODOLOGIA**

#### **3.4.1. Calidad bacteriológica de superficies y equipos**

##### **3.4.1.1. Método de hisopo para superficies inertes regulares**

###### **a. Técnica**

Hisopado (MINSA, 2007).

###### **b. Fundamento**

Para cuantificar las bacterias presentes en las superficies sometidas a estudio se realizó por el método del hisopo, el cual debe ser estéril y previamente estar humedecido en solución diluyente en un área de 100 cm<sup>2</sup> de cada superficie muestreada (MINSA, 2007).



### **c. Procedimiento**

Se colocó una plantilla de plástico de polietileno de alta densidad (HDPE) de 10cm x 10cm sobre la superficie a muestrear en donde:

- Se humedeció el hisopo en la solución salina 0.9% y presiono ligeramente en la pared del tubo para quitar el exceso de solución.
- Con el hisopo inclinado en un ángulo de 30°, se froto 4 veces la superficie delimitada por la plantilla, cada una en dirección opuesta a la anterior, asegurando que el hisopado este en toda la superficie.
- En caso de plantillas de plástico HDPE de 5cm x 5cm se repitió esta operación 3 veces más, en lugares diferentes de la misma superficie, hasta obtener 100 cm<sup>2</sup>.
- Se colocó el hisopo en un tubo con solución diluyente, quebrando la parte del hisopo que estuvo en contacto con los dedos, la cual debe ser eliminada, para posteriormente ser llevada al laboratorio (MINSAs, 2007).

#### **3.4.1.2. Método de aislamiento e identificación de bacterias en superficies inertes y equipos**

##### **a. Técnica**

Recuento directo de células viables



## **b. Fundamento**

La técnica de recuento directo de células viables permite calcular de manera cuantitativa la cantidad o número de bacterias encontradas en superficies viva o inerte ya sean regulares o irregulares, para determinar si una superficie presenta una cantidad de bacterias presentes “normales” (Aucancela et al., 2021).

## **c. Procedimiento**

Se realizó un recuento directo de células viables mediante la técnica de siembra por extensión. Las muestras diluidas de superficies se agitaron en un vortex a 30 rpm durante un minuto de las que se tomó 100µl (0.1 ml) de cada una con una micropipeta, de ahí esta se colocó en una placa Petri con TSA (Agar Trypticosa Soya, Marca Merck), el cual se preparó en la proporción de 100g para 1 litro, el cual favorece el crecimiento de una gran variedad de microorganismos (aerobios y anaerobios facultativos y estrictos) ya que la tripteína y peptona de soya aportan nutrientes ricos en péptidos, aminoácidos, bases nitrogenadas, minerales y vitaminas. Utilizando un asa de Digralsky estéril se extendió la muestra por la superficie del agar TSA con movimientos de arriba hacia abajo, mientras se rota la placa con la otra mano. Se dejó en reposo hasta la completa absorción de la muestra y se incubó la placa invertida durante 18-24 horas a  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  (Aucancela et al., 2021).

En caso de obtener un recuento >30-300 UFC por cada mililitro se realizó diluciones seriadas, hasta conseguir el rango adecuado (Aucancela et al., 2021).

$$X = N \times FD \times v/100\text{cm}^2$$

Dónde: X = Número de bacterias encontradas en UFC/cm<sup>2</sup>, N= Número de colonias en la caja de Petri, FD = factor de dilución, v = volumen de solución diluyente (Aucancela et al., 2021).

Los datos obtenidos se dieron en UFC/cm<sup>2</sup>, donde el número de colonias se multiplica por el factor de dilución (FD) y por el volumen del agua peptonada usada (9ml), el mismo que se dividió entre el área de la superficie hisopada (100cm<sup>2</sup>) para superficies regulares (Aucancela et al., 2021).

**Tabla 5**

*Parámetros para niveles de contaminación de superficies hospitalarias y/o quirófanos*

Parámetro	Valor	Clasificación
Aerobios mesófilos	Hasta 10 UFC/cm <sup>2</sup>	Optimo
Aerobios mesófilos	10 a 29 UFC/cm <sup>2</sup>	Tolerable
Aerobios mesófilos	Mas de 29 UFC/cm <sup>2</sup>	Intolerable

**Nota:** UFC: unidades formadoras de colonias, cm<sup>2</sup>: centímetros cuadrados

**Fuente:** Rosero (2020)



### 3.4.1.3. Método de Tinción Gram

#### a. Técnica

Coloración Gram

#### b. Fundamento

Es un tipo de tinción que se realiza sobre bacterias para observar al microscopio. Según la distribución del peptidoglicano de la pared celular es que se tiñen de una forma u otra. Así, las bacterias que se tiñen de color púrpura son Gram positivas y las que lo hacen de color rosado o rojo son Gram negativas (Loaiza, 2017).

#### c. Procedimiento

Para realizar la tinción se utilizó el cristal violeta, lugol, alcohol acetona y safranina de la marca Diagtest (Loaiza, 2017).

Para ello se siguió los siguientes pasos:

- Se escogió la colonia a teñir con ayuda del asa bacteriológica y se extendió en un portaobjeto con una gota de agua destilada.
- Se pasó por la flama del mechero para fijarla, para posteriormente incorporar el cristal violeta por el periodo de 1 minuto.
- A continuación, se lavó con abundante agua para eliminar el exceso de colorante, seguido de ello se incorporó el lugol por 1 minuto.



- Igualmente, pasado este tiempo se lavó con abundante agua, tras ello se pasó a decolorar con alcohol acetona por 30 segundos y con mucha rapidez se lavó el exceso de decolorante para evitar problemas.
- Finalmente se utilizó la safranina como colorante de contraste por 1 minuto, pasado ello se lavó con agua y dejó secar las láminas a temperatura ambiente, para luego observar al microscopio compuesto con el objetivo de 100X con ayuda del aceite de inmersión (Aucancela et al., 2021; Loaiza, 2017).

Tras el reconocimiento de la clasificación de bacterias mediante tinción Gram, se observó la morfología y características de cada colonia diferente y se otorgó una codificación. Para posteriormente identificar a las bacterias aisladas donde se usó cultivos in vitro, pruebas bioquímicas y pruebas microbiológicas (Aucancela et al., 2021).

#### **3.4.1.4. Método de identificación de Gram positivos**

##### **A. Aislamiento selectivo**

###### **a. Técnica**

Siembra en Agar Manitol Salado (MSA)

###### **b. Fundamento**

El agar Manitol Salado es un medio enriquecido selectivo para aislar estafilococos patógenos y no patógenos (Rosero, 2020).



El extracto de carne y la peptonas constituyen la fuente de carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales que estimulan el desarrollo microbiano. El manitol es el carbohidrato fermentable, el NaCl 7.5% el agente que inhibe el desarrollo de la flora acompañante, y el rojo fenol el indicador de pH el cual puede virar al amarillo. Los estafilococos crecen en altas concentraciones de sal, y pueden o no fermentar el manitol (Merck, 2005).

### **c. Procedimiento**

Se sembró por estriado una colonia en agar MSA (Marca Merck) y se incubó la placa en posición invertida durante 18-24 horas a  $35\pm 2$  °C (Rosero, 2020).

Se interpretó como manitol positivo el viraje de color del medio ligeramente anaranjado a amarillo brillante y como manitol negativo el viraje de color a rojo o fucsia intenso. Las cepas de *Staphylococcus saprophyticus* presentarán un viraje variable, entre amarillo y rojo (Rosero, 2020).

## **B. Reacción de la catalasa**

### **a. Técnica**

Prueba de la catalasa

### **b. Fundamento**

La catalasa es una enzima que tiene la mayoría de las bacterias, cuya función es catalizar la ruptura del agua oxigenada,





liberando oxígeno al ambiente, por ende, esta prueba nos ayuda a diferenciar distintas cepas de bacterias (Rosero, 2020).

### **c. Procedimiento**

En una placa portaobjetos se colocó una gota de peróxido de hidrógeno (Marca Portugal) y, con la ayuda del asa previamente esterilizada se homogenizo la colonia seleccionada. Se interpretó como resultado positivo la formación inmediata de burbujas al haber contacto colonia con reactivo; y negativo, cuando no (Aucancela et al., 2021).

Las bacterias del género *Staphylococcus* son catalasa positiva y *Streptococcus* son catalasa negativa. Las cepas catalasa positiva se sembraron por estriado en Agar Manitol Salado (MSA) y se les realizó la prueba de la coagulasa. Las cepas catalasa negativo se sembraron por estría en Agar Sangre, la que se incubo en posición invertida en una cámara de anaerobiosis y se interpretó como *Streptococcus* gamma hemolítico aquellas colonias que no presentaron un halo alrededor tras la incubación (Aucancela et al., 2021).

## **B. Reacción de la coagulasa**

### **a. Técnica**

Prueba de producción de coagulasa

### **b. Fundamento**



La coagulasa se une a la protrombina y en conjunto se vuelve enzimáticamente activa e inicia la polimerización de fibrina. Se realiza para diferenciar *S. aureus* (coagulasa positiva) de otros *Staphylococcus* (Uchuya, 2015).

### **c. Procedimiento**

Se seleccionó una colonia sospechosa de *S. aureus*, la que se colocó en un tubo que contenía 250 µl de plasma de conejo estéril y se incubó a  $37\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 24 h, luego de lo cual se procedió a la observación que dio positivo en el caso que se formó un coágulo (Uchuya, 2015).

## **C. Prueba de susceptibilidad antibiótica**

### **a. Técnica**

Prueba de la Bacitracina y Novobiocina

### **b. Fundamento**

Por el método de difusión de discos en agar Müeller-Hinton según recomendaciones del Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI), se determinó la susceptibilidad frente a Bacitracina Oxoid 0.04 µg (que inhibe el crecimiento de estreptococos beta hemolíticos del grupo A de otros estreptococos beta hemolíticos, asimismo estafilococos coagulasa negativa son resistentes) (Oxoid, 2024) y a Novobiocina Oxoid 5 µg (diferencia *S. saprophyticus* de otros estafilococos coagulasa negativos), para diferenciar cepas bacterianas Gram Positivas (Aucancela et al., 2021).



### **c. Procedimiento**

Se preparó suspensiones bacterianas a escala 0.5 McFarland en solución salina estéril 0.9 %, de ahí se sembró cada suspensión en placas Petri mediante hisopado y se dejó reposar por 5 minutos hasta la absorción de la suspensión. Transcurrido ese tiempo y usando una pinza estéril se distribuyó los discos de antibiótico sobre la superficie de agar, de manera que en cada división de la placa Petri quedó un disco de Bacitracina y otro de Novobiocina sin posibilidad de que se produzca superposición de los halos de inhibición. Se incubó las placas invertidas a  $35\pm 2$  °C durante 16-18 h. Se consideró los siguientes puntos de corte: halos de inhibición  $\leq 15$  mm correspondió a resistentes y halos de 30-35 mm de diámetro como sensibles (Aucancela et al., 2021)

#### **3.4.1.5. Método de identificación de Gram negativos**

##### **Aislamiento bacteriano**

###### **a. Técnica**

Siembra en Agar Mac Conkey

###### **b. Fundamento**

El agar Mac Conkey es un medio selectivo el cual nos permite aislar y diferenciar distintas cepas de bacterias Gram negativas (Aucancela et al., 2021). Las peptonas proporcionan los nutrientes necesarios para el crecimiento bacteriano; la lactosa actúa como carbohidrato fermentable, y la mezcla de sales biliares



con el cristal violeta inhiben el desarrollo de la mayoría de bacterias Gram positivas. Debido a la fermentación de la lactosa, baja el pH alrededor de la colonia, lo que vira el color del indicador de pH (rojo neutro), la absorción en las colonias, y la precipitación de las sales biliares, en la que las bacterias no fermentadoras de lactosa producen colonias incoloras (Merck, 2005).

### **c. Procedimiento**

Se disolvió una proporción de 50 g de agar Mac Conkey (Marca Merck) por litro de agua destilada (pH  $7.1 \pm 0.2$ ), la que luego de prepararla en condiciones estériles (autoclavado en el equipo WiseClave a  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  x 15min a  $1.2\text{ kgf/cm}^2$ ), se dispensó en placas Petri. Posteriormente, se sembró el hisopado de las superficies por estriado en una placa Petri con Agar Mac Conkey y se incubaron en posición invertida a  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24 h (Aucancela et al., 2021; Merck, 2005).

## **Reacciones de diferenciación bioquímica**

### **a. Técnica**

Pruebas de bioquímica

### **b. Fundamento**

Las pruebas bioquímicas en bacterias Gram negativas nos permiten determinar las características metabólicas de bacterias puestas a investigación, la cual es de gran apoyo para identificar diversos tipos de bacterias Gram negativas (Murray et al., 2021).



### **c. Procedimiento**

Se identificó a las bacterias usando una batería bioquímica, la cual está formada por medios de cultivo sólidos como agar hierro tres azúcares (TSI), agar lisina hierro (LIA), agar citrato de Simmons, medio SIM (Hidrógeno sulfurado, Indol y movilidad) y prueba de Urea (Murray et al., 2021).

#### **Cultivo en agar hierro tres azúcares (TSI)**

##### **a. Técnica**

Siembra en agar hierro tres azúcares (TSI)

##### **b. Fundamento**

Se usa para determinar si la bacteria fermenta alguno de los tres azúcares que están presentes en este medio (sacarosa, lactosa y/o glucosa), para así, lograr identificar enterobacterias (Murray et al., 2021). Específicamente el extracto de carne y la pluripeptona, aportan los nutrientes para el crecimiento bacteriano, mientras que la lactosa, sacarosa y glucosa son los carbohidratos fermentables. El tiosulfato de sodio es el sustrato para la generación de ácido sulfhídrico, el sulfato de hierro y amonio, es la fuente de  $Fe^{3+}$  que se combina con el  $H_2S$  y producen sulfuro de hierro (color negro). El rojo de fenol es el indicador de pH, y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico (Merck, 2005).

Por fermentación de azúcares, es que se genera ácidos, que se detectan con el rojo de fenol, que vira al color amarillo en medio



ácido. Asimismo, el tiosulfato de sodio se reduce a sulfuro de hidrógeno que reacciona con una sal de hierro produciendo sulfuro de hierro de color negro (Merck, 2005).

### **c. Procedimiento**

Se disolvió una proporción de 65 g de agar TSI (Marca Merck) por litro de agua destilada (pH  $7.4 \pm 0.2$ ), la que luego de prepararla en condiciones estériles (autoclavado en el equipo WiseClave a  $121\text{ }^{\circ}\text{C} \times 15\text{min}$  a  $1.2\text{ kgf/cm}^2$ ), se dispensó en tubos de ensayo. De ahí, con una aguja bacteriológica se tomó la muestra de la colonia bacteriana a identificar y se sembró en el medio de cultivo inclinado, se realizó un piquete hasta el fondo, el medio y luego estría en la superficie, posteriormente se llevó a incubación por 24 h a  $37^{\circ}\text{C}$ . Pasado este tiempo se observó si ocurrió el viraje del medio de rojo (K) a amarillo (A) y la producción de sulfuro de hidrógeno (+, color negro) (Merck, 2005; Murray et al., 2021).

### **Cultivo en agar lisina hierro**

#### **a. Técnica**

Siembra en agar lisina hierro (LIA)

#### **b. Fundamento**

La peptona y el extracto de levadura suministran los nutrientes para el crecimiento bacteriano. La glucosa es el carbohidrato fermentable y la lisina es el sustrato para detectar las enzimas decarboxilasa y deaminasa, mientras que el citrato de



hierro y amonio y el tiosulfato de sodio son los indicadores de la producción de ácido sulfhídrico. El purpura de bromocresol, es el indicador de pH (amarillo a  $\text{pH} \leq 5.2$  y violeta a  $\text{pH} \geq 6.8$ ). Los microorganismos fermentadores de glucosa acidifican el medio y producen el viraje del color púrpura al amarillo, el cual favorece la actividad enzimática decarboxilasa metabolizando la lisina a cadaverina elevando el pH y tornándolo a púrpura (Merck, 2005).

De otro lado, los microorganismos fermentadores de glucosa que no presentan actividad lisina decarboxilasa, producen un viraje de la totalidad del medio al amarillo. A las 24 h de incubación se observa el fondo del tubo color amarillo y la superficie de color violeta debido al consumo de peptonas que generan alcalinidad. Y respecto a la producción de  $\text{H}_2\text{S}$ , se visualiza por el ennegrecimiento del medio debido a la formación de sulfuro de hierro. Los géneros *Proteus*, *Providencia* y algunas de *Morganella*, desaminan la lisina lo que produce ácido alfa-ceto-carbónico, que junto con la sal de hierro y bajo la influencia del oxígeno forma un color rojizo en la superficie del medio (Merck, 2005; Murray et al., 2021).

### **c. Procedimiento**

Se disolvió una proporción de 32 g de agar LIA (Marca Merck) por litro de agua destilada ( $\text{pH} 6.7 \pm 0.2$ ), la que luego de prepararla en condiciones estériles (autoclavado en el equipo WiseClave a  $121^\circ\text{C} \times 15\text{min}$  a  $1.2 \text{ kgf/cm}^2$ ), se dispensó en tubos



de ensayo. Se tomó con la aguja bacteriológica la muestra de colonia a identificar y se sembró realizando 3 piquetes hasta el fondo inclinado del agar y luego estría simple en la superficie, luego se llevó a incubación por 24 h a 37°C, pasando este tiempo se observó las reacciones bioquímicas en el medio por el viraje de color del medio de violeta (K) a amarillo (A) (Murray et al., 2021).

### **Cultivo en agar citrato de Simmons**

#### **a. Técnica**

Siembra en agar citrato de Simmons (CS)

#### **b. Fundamento**

El fosfato monoamónico es la única fuente de nitrógeno y el citrato de sodio la única fuente de carbono, los que son necesarios para el crecimiento bacteriano generando alcalinidad. Las sales de fosfato forman un sistema buffer, el magnesio actúa como cofactor enzimático, mientras que el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, el azul de bromotimol es el indicador de pH, que vira al color azul en medio alcalino. El metabolismo del citrato se realiza a través del citrato permeasa mediante el ciclo del ácido tricarboxílico lo que produce el desdoblamiento del citrato a oxalacetato y piruvato, donde este último, en presencia de un medio alcalino, da origen a ácidos orgánicos que, al ser utilizados como fuente de carbono, producen carbonatos y bicarbonatos alcalinos, virando el medio al azul (Merck, 2005; Murray et al., 2021).





### **c. Procedimiento**

Se disolvió una proporción de 22.3 g de agar CS (Marca Merck) por litro de agua destilada (pH  $6.6 \pm 0.2$ ), la que luego de prepararla en condiciones estériles (autoclavado en el equipo WiseClave a  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  x 15min a  $1.2\text{ kgf/cm}^2$ ), se dispensó en tubos de ensayo. Luego, se tomó con la aguja bacteriológica una colonia y se sembró sobre la superficie del medio inclinado por método de estría simple, luego se llevó a incubación por 24 h a  $37^{\circ}\text{C}$ , pasado este tiempo se observó la reacción bioquímica en caso de ser positiva el medio se torna azul y negativa mantiene su color verde original (Murray et al., 2021).

### **Cultivo en medio motilidad indol sulfuro**

#### **a. Técnica**

Cultivo SIM (Sulfuro de hidrógeno, Indol, Movilidad)

#### **b. Fundamento**

La caseína y la peptona aportan nutrientes para el crecimiento microbiano. El triptófano presente en las proteínas puede ser metabolizado por algunas bacterias para formar indol mediante la triptofanasa que se combina con el aldehído de Kovac's, para formar un compuesto de color rojo. A partir del tiosulfato de sodio los microorganismos pueden generar ácido sulfhídrico que reacciona con el hierro formándose un compuesto de color negro. El agar al estar en condición semisólida, permite



detectar movilidad, que se manifiesta por el enturbiamiento del medio (difusión más allá de la línea de siembra) (Merck, 2005; Murray et al., 2021).

### **c. Procedimiento**

Se disolvió una proporción de 30.0 g de agar SIM (Marca Merck) por litro de agua destilada (pH  $7.3 \pm 0.2$ ), la que luego de prepararla en condiciones estériles (autoclavado en el equipo WiseClave a  $121\text{ }^{\circ}\text{C} \times 15\text{min}$  a  $1.2\text{ kgf/cm}^2$ ), se dispensó en tubos de ensayo. Posteriormente se tomó una colonia de bacterias con la aguja bacteriológica y se sembró en el medio realizando una punzada hasta la  $\frac{3}{4}$  partes del medio y se llevó a incubación por 24 h a  $37^{\circ}\text{C}$ , pasado el tiempo se le incorporo el reactivo de Kovács para observar la presencia del indol en cuyo caso si se forma un anillo rosado fue indol positivo, también se observó la movilidad y la presencia de hidrógeno sulfurado si este se tornara negro (Murray et al., 2021).

## **Cultivo en medio urea**

### **a. Técnica**

Cultivo Urea

### **b. Fundamento**

La urea constituye una fuente de nitrógeno que permite la detección de la hidrólisis de ésta, mientras que el extracto de levadura aporta vitaminas para el desarrollo de microorganismos,



los fosfatos mantienen el equilibrio osmótico y el rojo fenol es el indicador de pH (Merck, 2005; Murray et al., 2021).

### **c. Procedimiento**

Se disolvió una proporción de 38.5 g de agar Caldo Urea (Marca Merck) por litro de agua destilada (pH  $6.8 \pm 0.2$ ), la que luego de prepararla en condiciones estériles ( $60\text{ }^{\circ}\text{C} \times 5\text{min}$ ), se dispensó en tubos de ensayo. Luego, se seleccionó una colonia e inoculó, y se cultivó por 18 - 24 horas observando el viraje de color (Merck, 2005; Murray et al., 2021).

### **Interpretación:**

Prueba positiva. Color rojo o rosado intenso en el pico de flauta o todo el agar. Puede haber una reacción positiva retardada después de 24 h y hasta 6 días de incubación (algunas cepas de *Klebsiella*, por ejemplo) (Murray et al., 2021).

Prueba negativa. No se produce cambio de color (control negativo, *Escherichia coli*; control positivo, *Klebsiella pneumoniae*) (Murray, et al., 2021).

Para determinar qué bacterias están presentes en ambientes se utilizará las reacciones bioquímicas para enterobacterias vistas en la Tabla 6, la cual va acorde a la guía del Instituto Nacional de Salud (INS) (Weinstein, 2020).

**Tabla 6**

*Guía de reacciones bioquímicas de Enterobacterias*

GRUPO I HIDROGENO SULFURADO (H <sub>2</sub> S) POSITIVO ANAEROGENICOS (GAS NEGATIVO)								
TSI	GAS	H <sub>2</sub> S	LIA	INDOL	CIT	UREA	MOV	Enterobacterias
K/A	-	-o+	K/K	-	+	-	-	<i>Salmonella typhi</i>
AEROGENICOS (GAS POSITIVO)								
TSI	GAS	H <sub>2</sub> S	LIA	INDOL	CIT	UREA	MOV	Enterobacterias
K/A	2+	4+	K/K	-	+	-	+	<i>Salmonella</i>
K/A o A/A	2+	4+	K/K	-	+	-	+	<i>Arizona</i>
K/A o A/A	2+	4+	K/A	-	+	-	+	<i>Citrobacter</i>
K/A o A/A	2+	4+	K/A	-o+	D	+	+	<i>Proteus</i>
GRUPO II HIDROGENO SULFUERADO (H <sub>2</sub> S) NEGATIVO ANAEROGENICOS (GAS NEGATIVO)								
TSI	GAS	H <sub>2</sub> S	LIA	INDOL	CIT	UREA	MOV	Enterobacterias
K/A	-	-	K/A	-o+	-	-	-	<i>Shigella</i>
K/A o A/A	-	-	K/K	+	-	-	V	<i>Escherichia</i>
K/A o A/A	-	-	K/A	-o+	+	D	+oV	<i>Enterobacter</i>
A/A	-	-	K/K	-	+	-	+oV	<i>Serratia</i>
K/A	-	-	R/A	+	D	+	+	<i>Proteus</i>
A/A	-	-	A/A o K/A	-o+	-	V	V	<i>Yersinia</i>
AEROGENICOS (GAS POSITIVO)								
TSI	GAS	H <sub>2</sub> S	LIA	INDOL	CIT	UREA	MOV	Enterobacterias
A/A o K/A	2+	-	K/K o K/A	+	-	-	V	<i>Escherichia</i>
A/A	4+	-	K/K	-o+	+	+	-	<i>Klebsiella</i>
A/A o K/A	3+	-	K/K o K/A	-	+	D	+ o V	<i>Enterobacter</i>
K/A o A/A	2+	-	K/K	-	+	-	+ o V	<i>Serratia</i>
K/A	+	-	K/A o R/A	+	D	+	+	<i>Proteus</i>
K/A	+	-	K/A o A/A	-	+	-	V	<i>Paratyphi A</i>

**Nota:** K: alcalino, R: rojo, D: diferentes reacciones, A: acido, N: neutro, V: variable

**Fuente:** Weinstein (2020).

### 3.4.1.6. Método estadístico

Se utilizó distribución de frecuencias para observar cuánto es el porcentaje de especies encontradas en las diferentes superficies del servicio de Laboratorio Clínico y los promedios de cada uno.

#### Distribución de frecuencia

Una vez recolectados los datos, se determinó los porcentajes de mesófilos viables y de especies de bacterias aislados en superficies inertes y equipos.

$$P = \frac{x}{n} \times 100$$

Dónde: p=Porcentaje, x=Información sobre agentes patógenos,  
n=Muestra de estudio (Larico, 2022).

#### Prueba de chi cuadrado de Pearson

Prueba no paramétrica para medir la relación entre la distribución observada y la esperada:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Dónde:  $O_i$  son los eventos o valores observados,  $E_i$ : son los valores esperados,  $\chi^2$ : chi cuadrado.

Grados de libertad

$$gl = (k - 1) * (r - 1)$$



Dónde: gl: grados de libertad, k: número de filas, r: número de columnas (Charca, 2019).

### **3.4.2. Calidad bacteriológica de ambientes de laboratorio clínico**

#### **3.4.2.1. Método estático o técnica de sedimentación en placa**

##### **a. Técnica**

Sedimentación en placa

##### **b. Fundamento**

Para la detección de la presencia de bacterias patógenas en los ambientes de hospitalización se realizó la técnica de sedimentación en placa por gravedad exponiéndose en medios sólidos para el aislamiento de colonias, donde se observa e identifica el crecimiento de bacterias (Pérez, 2016).

##### **c. Procedimiento**

En una placa Petri de 9 cm<sup>2</sup> se colocó el medio agar Trypticosa Soya (TSA) el cual fue preparado como se describió líneas arriba; el que fue expuesto durante 10, 15, 20 o 30 minutos en los ambientes a estudiar. Los resultados que se obtienen usando este método se expresa en UFC/cm<sup>2</sup>/hora, no siendo aconsejable que se exponga la placa durante mucho tiempo ya que esta puede perder sus propiedades (Aucancela et al., 2021).

Para poder realizar una comparación de los ambientes, las placas se expusieron siempre en puntos iguales o similares y bajo



las mismas condiciones para poder comparar los resultados obtenidos (Aucancela et al., 2021).

### **3.4.2.2. Método de aislamiento e identificación de bacterias en muestras de aire**

#### **a. Técnica**

Aislamiento de bacterias mesófilas viables

#### **b. Fundamento**

El término mesófilo se refiere a la temperatura de desarrollo bacteriano, entre 20-42 °C, las que requieren de oxígeno. A este grupo también se le conoce como cuenta total bacteriana, la que proporciona información del número total de bacterias viables que incluyen tanto patógenas como no patógenas. La variedad de especies y tipos diferenciales por sus diferentes necesidades nutricionales, temperatura requerida para su crecimiento, oxígeno disponible, hacen que el número de colonias contadas constituyan una estimación de la cifra realmente presente (Escobedo et al., 2016).

#### **c. Procedimiento**

Para aislar bacterias mesófilas viables se incubó la placa con el agar TSA durante 48 h a  $32.5 \pm 2.5^\circ\text{C}$  donde cada colonia representó una partícula portadora de microorganismos que habría caído sobre el agar.



Al término de la incubación en este medio se realizó el conteo de colonias y se informó como UFC por m<sup>3</sup> de aire de acuerdo a la fórmula propuesta por Omeliansky (Rodríguez et al., 2016) que es la siguiente:

$$N = 5a \times 10^4 (bt)^{-1}$$

Donde N = número de microorganismos en el aire interno, a = número de colonias en la caja de Petri, b = superficie de la placa Petri ( $r^2 \times \pi$ ) expresado en cm<sup>2</sup>, t = tiempo de exposición (Rodríguez et al., 2016).

Para la identificación de bacterias Gram positivas como Gram negativas se usó el mismo método descrito en la metodología anteriormente mencionada (tinción Gram, reacciones químicas de identificación de Gram positivos y Gram negativos y tablas para identificación bioquímica).

**Tabla 7**

*Concentración de bacterias mediante niveles de contaminación*

Nivel de contaminación	Concentración de bacterias (UFC/m <sup>3</sup> en el aire)
Muy baja	<50
Baja	50-100
Intermedia	100-500
Alta	500-2000
Muy alta	>2000

**Nota:** UFC: unidades formadoras de colonias

**Fuente:** OMS en Tinoco et al. (2016)





### 3.4.2.3. Método estadístico

Se utilizo distribución de frecuencias para observar cuánto es el porcentaje de especies encontradas en los diferentes ambientes del servicio de Laboratorio Clínico, además de promedios de los recuentos bacterianos.

#### **Distribución de frecuencias**

##### **a. Método**

Distribución de frecuencias

##### **b. Fundamento**

El método de distribución de frecuencias nos permitió disponer las modalidades de las variables por filas, donde su finalidad fue facilitar la obtención de información a través de agrupaciones de frecuencias.

##### **c. Procedimiento**

Una vez recolectados los datos, se determinó los porcentajes de mesófilos viables en muestras de aire y de especies de bacterias aislados en cada área delimitada del laboratorio clínico (Larico, 2022).

$$P = \frac{x}{n} \times 100$$

Dónde: p=Porcentaje, x=Información sobre agentes patógenos, n=Muestra de estudio (Larico, 2022).

## Distribución Chi cuadrado

### a. Método

Chi cuadrado

### b. Fundamento

Prueba no paramétrica para medir la relación entre la distribución observada y otra.

### c. Procedimiento

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Dónde:  $O_i$  son los eventos o valores observados,  $E_i$ : son los valores esperados,  $\chi^2$ : chi cuadrado.

Grados de libertad

$$gl = (k - 1) * (r - 1)$$

Dónde: gl: grados de libertad, k: número de filas, r: número de columnas (Charca, 2019).

### 3.4.3. Resistencia antimicrobiana de bacterias patógenas intrahospitalarias aisladas de superficies y equipos del servicio de laboratorio clínico

Al finalizar la identificación de bacterias como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus sp.* se determinó si fueron resistentes a antibióticos, para lo cual se utilizaron muestras en donde se logró aislar dichas bacterias patógenas.



### 3.4.3.1. Método de difusión

#### a. Técnica

Difusión Kirby – Bauer

#### b. Fundamento

La susceptibilidad a los antimicrobianos o antibiograma, se basa en el uso de una cantidad del antimicrobiano, que está impregnado en un reservorio de papel filtro, el cual al ser aplicado sobre la superficie en el que se ha sembrado el microorganismo en cuestión, forma por difusión un gradiente de concentración del antimicrobiano, cuya sensibilidad está indicada por el tamaño del halo de inhibición de crecimiento alrededor del disco (León, 2014).

#### c. Procedimiento

- Se utilizó las cepas puras aisladas del medio TSI en caso de Gram negativos y del MSA en caso de Gram positivos; de 3 a 5 colonias aisladas con la misma morfología; transfiriéndolas luego a un frasco de suero fisiológico estéril, donde se estandarizó el inóculo con el patrón de turbidez 0.5 Mc Farland. Luego se introdujo un hisopo estéril en la suspensión haciendo rotar el hisopo, presionando en las paredes del tubo para eliminar el excedente. Luego se realizó la siembra suavemente sobre la superficie del medio Müeller Hinton en tres direcciones, haciendo girar la placa Petri en cada siembra en un ángulo de 65° permitiendo una distribución homogénea



del inoculó en agar. De ahí se realizó la distribución de antibióticos, para que estén en contacto con el medio enriquecido de manera individual con ayuda de una pinza esterilizada, de modo que estén separados 2.5 cm uno del otro (según la OMS es de 6 cm), no siendo recomendable distribuir 12 discos en una solo palca. (Larico, 2022).

- Finalmente, la medición de los halos de inhibición se realizó con una regla sosteniendo la placa Petri en forma invertida (Larico, 2022; MINSALUD, 2018).

Entre los antibióticos usados para determinar la susceptibilidad *in vitro* según la Tabla 8 sacada del manual de procedimientos de disco difusión del INS estuvieron:

- Cefalosporinas: Son los antibióticos más comúnmente prescritos en los hospitales, aproximadamente el 30-50% de los antibióticos prescritos a pacientes hospitalizados son cefalosporinas, (Estrella et al., 2020) que para el estudio fue la ceftriaxona y cefalotina.
- Aminoglucósidos: Constituyen un grupo de antibióticos, que actúan sobre enterobacterias y otras bacterias gramnegativas (especialmente *Pseudomonas*), que son con frecuencia resistentes a otros antibióticos (Estrella et al., 2020), entre las cuales para este propósito se empleo la amikacina y gentamicina.



- **Quinolonas:** Tienen un espectro dirigido hacia bacilos gramnegativos y se han utilizado preferentemente como antisépticos urinarios, intestinales y biliares (Gómez et al., 2015) que para este caso fue ciprofloxacina.
- **Monobactámico:** Para este estudio se empleó aztreonam, cuya indicación principal es para el tratamiento empírico de la sepsis grave en probable relación con bacilos gramnegativos, no tiene acción en cocos Gram positivos ni anaerobios; se usa en pacientes con antecedentes de alergia tipo II a penicilina o betalactámicos (Gómez et al., 2015). Además, se empleó amoxicilina-ácido clavulánico.
- **Carbapenémicos:** Está indicado en infecciones graves mixtas, en situaciones de alta gravedad clínica inicial o en infecciones refractarias a tratamientos previos, incluidas las causadas por bacilos gramnegativos resistentes a cefalosporinas y aminoglucósidos. También en infecciones nosocomiales graves (pertenece a antimicrobianos betalactámicos de espectro más amplio, actividad y resistencia a las betalactamasas, incluida BLEE) (Cervantes et al., 2014; Gómez et al., 2015). Para este estudio se evaluó el imipenem.
- **Betalactámicos:** El anillo betalactámico tiene como mecanismo de acción la inhibición de la síntesis de la pared bacteriana (Cervantes et al., 2014). Para este trabajo se empleó la amoxicilina.



- Penicilinas: Dentro del grupo de las penicilinas esta la ampicilina, es una amino penicilina o penicilina semisintética; se obtiene por acilación del ácido 6-aminopenicilánico; esta es bactericida tanto para Gram positivos como Gram negativos (Gómez et al., 2015). En este estudio se utilizó la ampicilina-sulbactam y oxacilina.
- Cloranfenicol: Es de amplio espectro contra cocos y bacilos Gram positivos y Gram negativos (incluidos anaerobios), usualmente se trata la meningitis o endoftalmitis, e infecciones graves debidas a unas pocas bacterias resistentes a diversos antibióticos (MINSALUD, 2018).
- Sulfametoxazol y trimetoprim: Es una combinación sinérgica, inhibe tanto Gram positivos como Gram negativos; la sulfonamida, es un bacteriostático antagónico con el ácido paraaminobenzoico un componente esencial en la síntesis de ácido fólico; el trimetoprim es similar estructuralmente al ácido fólico, inhibe el dihidrofolato reductasa bacteriana, el cual evita la síntesis de la forma activa tetrahydro del ácido fólico, donde la combinación causa bloqueo secuencial de la síntesis de folato (MINSALUD, 2018; Rodríguez, 2013).

**Tabla 8**

*Discos de sensibilidad de antimicrobianos*

ANTIMICROBIANO	Cantidad	DIAMETRO (mm)		
		R	I	S
<b>PENICILINAS</b>				
Ampicilina	10 µg	<13	14-16	>18
<b>CEFALOSPORINAS</b>				
Cefalotina	30 µg	<14	15-17	>18
Cefuroxima axetil (oral)	30 µg	<14	15-22	>23
Cefuroxima sodium (parenteral)	30 µg	<14	15-17	>18
Cefoxitina	30 µg	<14	15-17	>18
Cefotaxima	30 µg	<14	15-22	>23
Ceftriaxona	30 µg	<13	14-20	>21
Ceftazidima	30 µg	<14	15-17	>18
Cefixima	5 µg	<15	16-18	>19
Cefpirome	30 µg	<14	15-17	>18
Cefepime	30 µg	<14	15-17	>18
<b>B LACTÁMICO / INHIBIDOR DE BETALACTAMASA</b>				
Ampicilina / sulbactam	10/10 µg	<11	12-14	>15
Amoxicilina / ácido clavulánico	20/10 µg	<13	14-17	>18
Cefoperazona / sulbactam +	75 µg/30 µg	<15	16-20	>21
<b>MONOBACTAMS</b>				
Aztreonam	30 µg	<15	16-21	>22
<b>CARBAPENEMS</b>				
Imipenem	10 µg	<13	14-15	>16
Meropenem	10 µg	<13	14-15	>16
<b>AMINOGLUCOSIDOS</b>				
Gentamicina	10 µg	<12	13-14	>15
Amikacina	30 µg	<14	15-16	>17
<b>QUINOLONAS</b>				
Ácido nalidíxico	30 µg	<13	14-18	>19
Norfloxacin	10 µg	<12	13-16	>17
Ciprofloxacina	5 µg	<15	16-20	>21
Ofloxacino	5 µg	<12	13-15	>16
<b>TETRACICLINA</b>				
TETRACICLINA	30 µg	<14	15-18	>19
<b>OTROS</b>				
Cloranfenicol	30 µg	<12	13-17	>18
Trimetoprim / sulfametoxazol	1.25/23.75 µg	<10	11-15	>16

**Nota:** µg: microgramos, mm: milímetros, S: sensible, I: intermedio, R: resistente

**Fuente:** Weinstein (2020)



## **Criterios tomados para valores en antibiogramas**

Resistente (R): Se da principalmente cuando las cepas estudiadas demuestran una inhibición escasa o nula, presumiblemente por mecanismos de resistencia bacteriana.

Sensible (S): Se da cuando las cepas estudiadas, pueden ser tratadas apropiadamente con las dosis del antibiótico recomendada para un tipo de infección, demostrando una inhibición notable por un antibiótico frente a una bacteria.

Intermedio (I): Son las cepas bacterianas, las cuales logran ser inhibidas por concentraciones superiores a las recomendadas, lo cual no es recomendable.

## **Distribución de frecuencia**

### **a. Técnica**

Frecuencia porcentual

### **b. Fundamento**

El método de distribución de frecuencias nos permite disponer las modalidades de las variables por filas, donde su finalidad es facilitar la obtención de información a través de agrupaciones de frecuencias.

### **c. Procedimiento**

Una vez recolectados los datos, se determinó los porcentajes de sensibles, intermedios y/o resistentes de especies de bacterias aislados en superficies inertes y equipos de laboratorio clínico.

$$P = \frac{x}{n} \times 100$$





Dónde: p=Porcentaje, x=Información sobre agentes patógenos,  
n=Muestra de estudio

## **Distribución Chi cuadrado**

### **a. Método**

Chi cuadrado

### **b. Fundamento**

Prueba no paramétrica para medir la relación entre la distribución observada y la esperada.

### **c. Procedimiento**

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Dónde:  $O_i$  son los eventos o valores observados,  $E_i$ : son los valores esperados,  $\chi^2$ : chi cuadrado.

Grados de libertad

$$gl = (k - 1) (r - 1)$$

Dónde: gl: grados de libertad, k: número de columnas, r: número de filas (Charca, 2019).

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. CONTAMINACION BACTERIANA INTRAHOSPITALARIA EN SUPERFICIES Y EQUIPOS

**Tabla 9**

*Nivel de contaminación hallados en pre y post desinfección en superficies inertes y equipos del servicio de laboratorio clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2”, Puno, 2022*

Área	Desinfección	O		T		I		Total		$\chi^2_c$	Valor p
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%		
Bioquímica	Pre	5	20.83	1	4.17	18	75.00	24	100.00	0.540	0.760
	Post	6	25.00	2	8.33	16	66.67	24	100.00		
Hematología	Pre	15	55.56	12	44.44	0	0.00	27	100.00	3.710	0.160
	Post	20	74.07	6	22.22	1	3.70	27	100.00		
Microbiología	Pre	9	37.50	9	37.50	6	25.00	24	100.00	1.250	0.530
	Post	11	45.83	10	41.67	3	12.50	24	100.00		
Toma de muestra	Pre	3	20.00	3	20.00	9	60.00	15	100.00	2.400	0.300
	Post	7	46.67	2	13.33	6	40.00	15	100.00		
Global	Pre	32	35.56	25	27.78	33	36.67	90	100.00	3.280	0.190
	Post	44	48.89	20	22.22	26	28.89	90	100.00		

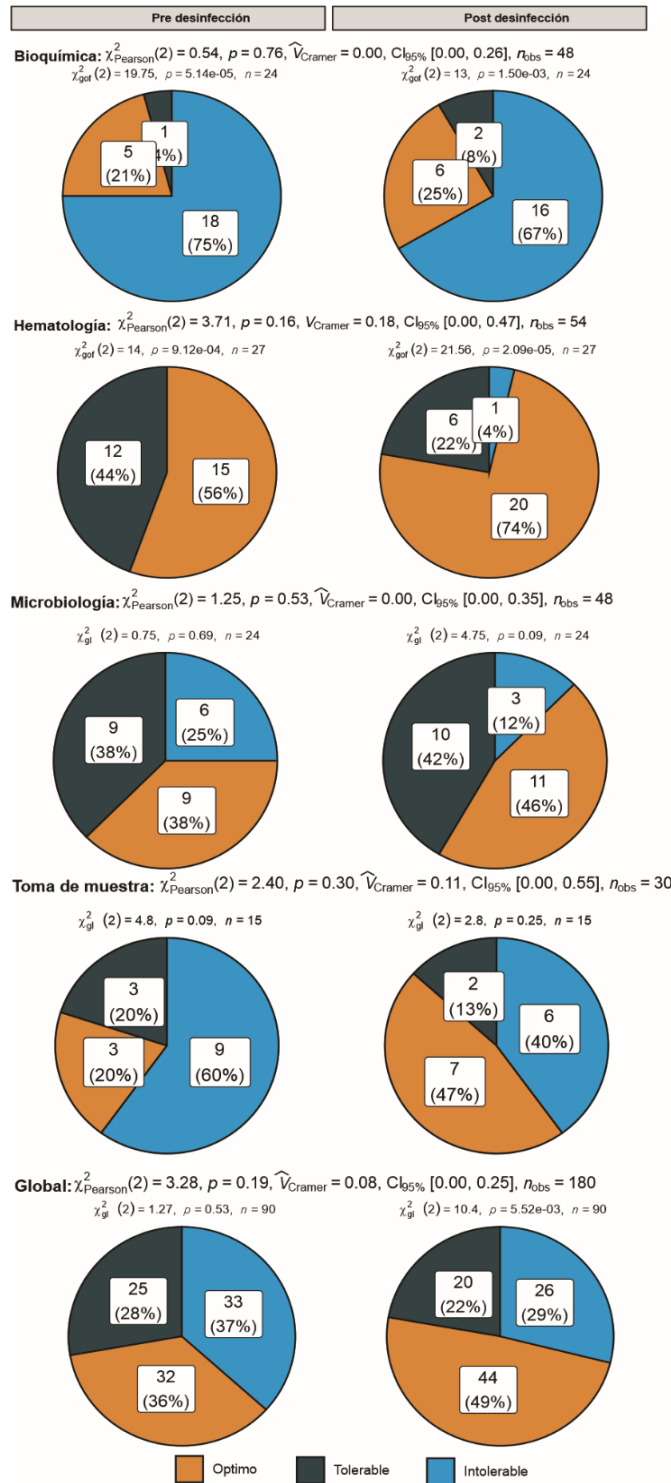
**Nota:** N°= numero, %= porcentaje; Óptimo (O)= <10 UFC/cm<sup>2</sup>, Tolerable (T)= 10 a 29 UFC/cm<sup>2</sup>, Intolerable (I)=>29 UFC/cm<sup>2</sup>

**Fuente:** Elaboración propia

En la Tabla 9 y Figura 1 se puede observar que en pre-desinfección (sin usar ningún tipo de desinfectante) un 37% de las superficies y equipos tienen una calidad intolerable, mientras que un 36 y 28% presentaban una condición óptima y tolerable, respectivamente. Asimismo, se pudo observar que los ambientes con mayor contaminación de condición intolerable fue el área de Bioquímica (18/33), mientras que los ambientes con menor contaminación correspondieron al área de hematología con un nivel óptimo (15/32) y tolerable (12/25).

**Figura 1**

*Análisis del nivel de contaminación en pre y post desinfección en superficies inertes y equipos del servicio de laboratorio clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2”, Puno, 2022*



**Fuente:** Elaboración propia



Por ello, lo hallado en pre-desinfección concuerda minimamente con Naranjo (2015), quien halló en habitaciones de quirófanos en pre-desinfección un 62.5% (5/8) de contaminación intolerable y 27.5% (3/8) de contaminación tolerable. Por otro lado, difiere de lo hallado por Bonifacio y Huzco (2019), en Huancayo quienes hallaron en un 100% de contaminación bacteriana intolerable en superficies antes de su desinfección, asimismo Ccencho y Quispe (2018), también en Huancayo halló un 100% de contaminación intolerable antes de su desinfección, de igual modo Ccencho y Quispe (2018), hallaron una contaminación de nivel intolerable del 100% por mesófilos aerobios antes de su desinfección.

Estos resultados hallados en pre-desinfección se deben principalmente a que las superficies muestreadas de laboratorio clínico, están en constante contacto de personas, material biológico y distintas cepas bacterianas; por ende la contaminación bacteriana por mesófilos aerobios en superficies sin desinfectar aumenta, por ende se convierte en una fuente de transmisión bacteriana ya sea de contacto directo, contaminación de fómites o relacionada con infecciones nosocomiales (IIH), para tal caso las superficies estudiadas solo el 37% tiene contaminación bacteriana intolerable, por lo cual junto a la bibliografía estudiada nos da como resultado que estas superficies evaluadas, si contarían con una calidad adecuada para superficies en pre desinfección en recintos hospitalarios. Por otro lado, esta contaminación, aunque sea mínima, se puede prevenir usando desinfectante al término de cada procedimiento realizado y cumpliendo con los protocolos de limpieza y desinfección.

En la post-desinfección (con hipoclorito de sodio al 0.5%) un 49% de las superficies y equipos resultaron con una calidad óptima, mientras que un 29 y 22% presentaban una condición intolerable y tolerable respectivamente. Asimismo, se pudo



observar que los ambientes con mayor contaminación de condición intolerable fue el área de Bioquímica (16/26), mientras que los ambientes con menor contaminación correspondieron al área de hematología con un nivel óptimo (20/44) y tolerable microbiología (10/20). Asimismo, estos resultados concuerdan con lo encontrado por Ccencho y Quispe (2018), quienes hallaron superficies con un 50% de calidad optima después de su desinfección, asimismo Gilbonio y Rodriguez (2018), hallaron una calidad de nivel óptimo del 66.6% después de su desinfección (desinfectante clorox al 0.5%), en otro estudio similar Caisahuana y Zavala (2020), también en Huancayo frente al uso de fenol la contaminación bacteriana se redujo en un 67.1%, dando así unos resultados óptimos en superficies inertes luego de ser desinfectadas,

Por el contrario, en otros estudios hallaron un mayor reducción de la contaminación bacteriana como el estudio realizado por Bonifacio y Huzco (2019), quienes hallaron una eficacia de la desinfección del 75% en áreas de consultorios de crecimiento y desarrollo, (88.6%) en escritorios, (68.9%) en salas de espera y (95%) en áreas de vacunación; asimismo, Aguilar y Zajami (2020), en Huancayo ante el uso de sapolio la contaminación redujo un 90.8%, para lejía (clorox) (95.1%); mientras que con el desinfectante Harpic (98.5%), en otro estudio se halló una reducción significativa en la carga bacteriana en un establecimiento farmacéutico, en donde en zonas sin desinfectar se halló una contaminación intolerable, luego de haber aplicado su protocolo de desinfección + limpieza disminuyó hasta niveles óptimos y tolerables (Egoavil y Pérez, 2018); y muy por el contrario a los resultados obtenidos en la presente investigación y la de otros autores, Naranjo (2015), en su estudio realizado en post-desinfección en quirófanos halló que el 100% (8/8) de sus muestras aun tenían contaminación intolerable.

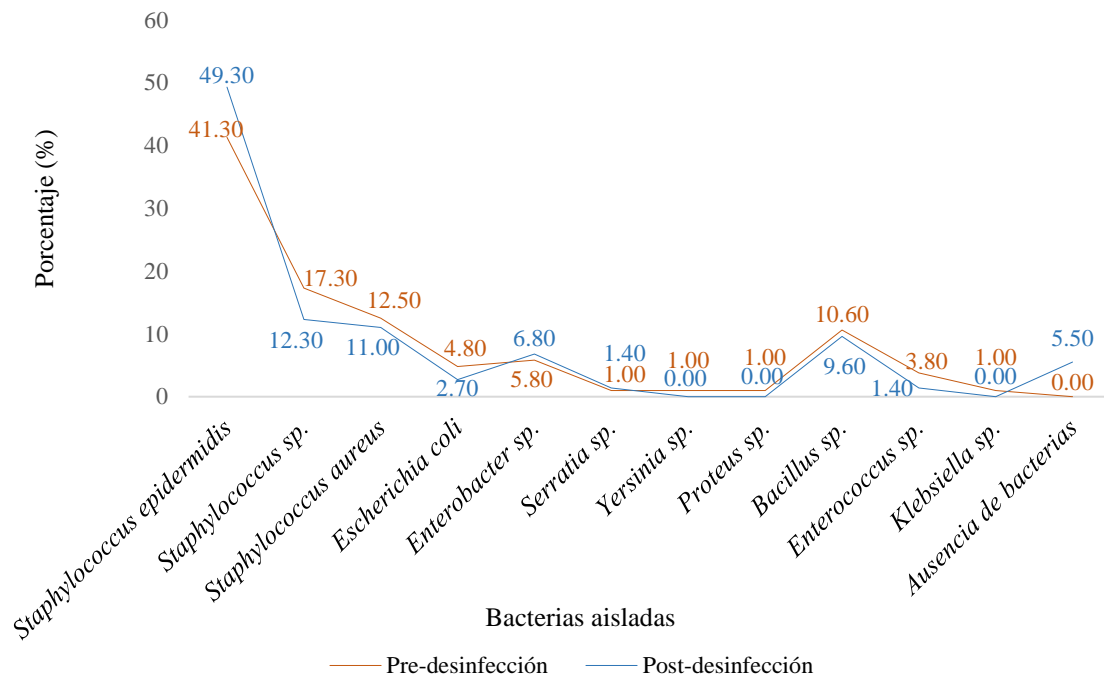


Por lo cual, los resultados hallados en post-desinfección en las superficies evaluadas, la desinfección no es completamente adecuada para recintos hospitalarios, lo que convierte a estas superficies una fuente de transmisión bacteriana relacionada con infecciones nosocomiales (IIH); asimismo, esta puede deberse factores asociados a la desinfección (desinfectante, tiempo de uso, material de limpieza y manual de desinfección), siendo prevenible mediante el uso prolongado del desinfectante, realizando una desinfección permanente y cumpliendo con los protocolos de desinfección.

Asimismo, luego de realizar la prueba de chi cuadrado con un 95% de confiabilidad, se puede confirmar de forma general que para todas las áreas no existe una diferencia estadística significativa ( $p > 0.05$ ) en la calidad bacteriológica de las superficies evaluadas tanto en pre y post-desinfección, debido a que el valor resultante  $\chi^2 = 3.2808$  es menor al valor de la tabla de chi cuadrado (5.9915). Sin embargo, se puede observar que el nivel de contaminación óptimo aumenta de 36 a 49% en post-desinfección, siendo datos positivos para la calidad de estas superficies; el nivel tolerable disminuye de 27 a 22% en post-desinfección y el nivel intolerable también disminuye de 37% en pre-desinfección a 29% en post-desinfección, reducción las cuales no son tan favorables para garantizar la calidad bacteriológica de estas superficies. También, se pudo observar que los ambientes con mayor contaminación de condición intolerable fue el área de Bioquímica la cual necesita de una mayor desinfección de sus superficies, mientras que los ambientes con menor contaminación correspondieron al área de hematología con un nivel tolerable tanto en pre y post-desinfección las cuales pese a los resultados si mantienen una calidad óptima para estas superficies estudiadas; por tal motivo la calidad bacteriológica en laboratorio clínico se mantiene dentro de lo hallado en otros estudios, pero la desinfección de estas al no ser significativas, se sugiere usar otro método de desinfección y/o limpieza.

## Figura 2

*Bacterias contaminantes intrahospitalarias de superficies inertes y equipos en pre y post desinfección en el servicio de Laboratorio Clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2”, Puno, 2022*

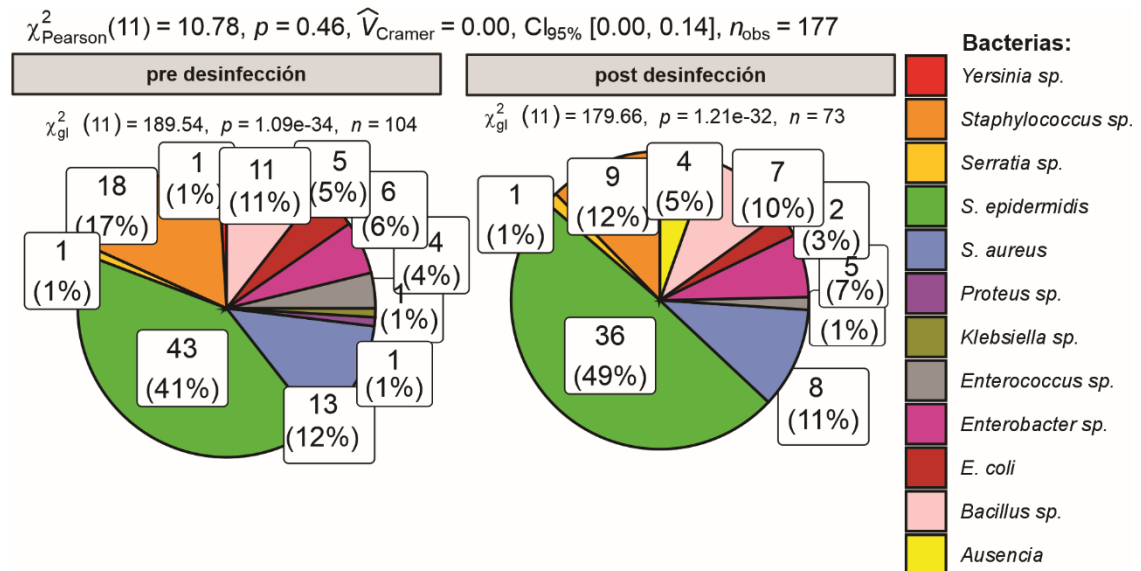


**Fuente:** Elaboración propia

En la Figura 2 y Figura 3 se puede observar que en pre-desinfección en superficies y equipos se aisló a *Staphylococcus epidermidis* (41.3%), *Staphylococcus sp.* (17.3%), *Staphylococcus aureus* (12.5%), a *Escherichia coli* (4.8%), *Enterobacter sp.* (5.8%); a *Serratia sp.* (1.0%); *Yersinia sp.* (1.0%); *Proteus sp.* (1.0%), *Bacillus sp.* (10.6%), *Enterococcus sp.* (3.8%) y a *Klebsiella spp.* (1%).

## Figura 3

*Análisis de la presencia de bacterias contaminantes intrahospitalarias de superficies inertes y equipos en pre y post desinfección en el servicio de Laboratorio Clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2”, Puno, 2022*



**Fuente:** Elaboración propia

Por otro lado, de las once distintas especies bacterianas aisladas en la presente investigación se encontró que bacterias patógenas como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* guarda relación con lo encontrado por Larico (2022) quien halló un 13.88% de contaminación por *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter sp.* (8.33%), *Escherichia coli* (5.55%) y *Yersinia sp.* (2.77%). Asimismo, en otro estudio Perez (2016), en superficies y ambientes de áreas quirúrgicas, aisló *Staphylococcus spp.* en un 64% del total de cepas aisladas, *Escherichia coli* (25%), *Hafnia alvei* (3%), *Citrobacter freundii* (4%) y *Burkholderia pseudomallei* (4%) del total de cepas aisladas (Perez et al., 2016), en otro estudio Díaz et al. (2017), hallaron a *Staphylococcus sp.* (78%), *Micrococcus sp.* (50%) y *Bacillus sp.* (22%) antes del uso de desinfectantes, asimismo Lorca (2018), halló un 77.7% de presencia de *Staphylococcus coagulasa* negativa, 11.1% *E. coli* y *Enterobacter sp.* en 11.1% antes de realizar una desinfección.





Por lo tanto, estos resultados hallados en pre-desinfección son los esperados debido a que *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus sp.* son provenientes de la flora normal de la piel de las personas y su presencia es inevitable en superficies las cuales están en constante contacto con pacientes y trabajadores de salud, mientras que la presencia de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella spp.* alerta de una posible fuente de contaminación para infecciones intrahospitalarias.

Mientras que, en post-desinfección, en superficies y equipos se aisló a *Staphylococcus epidermidis* (49.3%), *Staphylococcus sp.* (12.3%), *Staphylococcus aureus* (11.0%), *Escherichia coli* (2.7%), *Enterobacter sp.* (6.8%), *Serratia sp.* (1.4%), *Bacillus sp.* (9.6%), *Enterococcus sp.* (1.4%) y en ausencia de bacterias 5.5%. Asimismo, se pudo observar que se aisló a *Staphylococcus epidermidis* (9/20) en el primer muestreo siendo la bacteria que más veces se identificó, mientras que las bacterias menos halladas fueron *Serratia sp.* y *Enterococcus sp.* (1/47) para ambas bacterias en el primer muestreo.

Resultados que concuerdan con Díaz et al. (2017), quienes hallaron a *Staphylococcus sp.* (53%), *Micrococcus sp.* (32%) y *Bacillus sp.* (7%), en otro estudio similar Lorca (2018), después de realizar una desinfección solo se halló 11.1% de cepas de *Staphylococcus coagulasa negativa*, estos resultados demuestran que muchas de las cepas aisladas también persisten en otros estudios, los cuales pertenecen a la flora normal de la piel e intestinos. Por otro lado, la presencia de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* evidencia que estas superficies están contaminadas y no es la adecuada para recintos hospitalarios; asimismo el transporte de material biológico y patógeno influye en la calidad bacteriana de estas superficies, lo cual puede generar vehículos de transmisión bacteriana hacia pacientes y personal de salud, por lo cual se puede convertir en un foco infeccioso asociado a infecciones intrahospitalarias mediante la transmisión cruzada.

Asimismo, luego de realizar la prueba de chi cuadrado con un 95% de confiabilidad, se puede observar que no existe diferencia estadística significativa ( $p > 0.05$ ) en la frecuencia de cepas bacterianas aisladas de las superficies tanto en pre y post-desinfección, debido a que el valor resultante  $\chi^2 = 10.7774$  es menor al de la tabla de chi cuadrado (19.6752). Sin embargo, se puede observar que *Staphylococcus epidermidis* fue la bacteria que más se aisló, aumentando su presencia de 41.3% a 49.3% en post-desinfección; *Staphylococcus sp.* disminuyó de 17.3 a 12.3 % en post-desinfección; *Staphylococcus aureus* disminuyó de 12.5 a 11% en post-desinfección; *Bacillus sp.* disminuyó en post desinfección de 10.6% a 9.6%; asimismo, solo en pre-desinfección se halló bacterias como: *Yersinia sp.*, *Proteus sp.* y *Klebsiella spp.* en un 1% y en post-desinfección un 5.5% de ausencia de bacterias.

Por otro lado, en diferentes estudios realizados en un ámbito normal sin considerar una desinfección, Carhuachunchay y Sandoval (2018), aisló a *Bacillus sp.* (66.7%) como principal contaminante de superficies, asimismo, Mansilla (2019), encontró en Tingo María a *Lactobacillus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Enterobacter sp.* *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter hafnia* y *Proteus morgani*, resultados similares a los de Charca (2019), quien halló cepas de *Staphylococcus aureus* (27.3%), *Escherichia coli* (22.7%) y *Klebsiella pneumoniae* (13.6%) en superficies de estetoscopios; mientras que Aucancela et al. (2021), en su investigación halló especialmente *Bacillus spp.* (26.1%), *Staphylococcus coagulasa negativo* (23.1%) y *Staphylococcus epidermidis* y *Bacillus cereus* (7.7%) en superficies de unidades de cuidados críticos, cepas bacterianas las cuales también fueron aisladas en la presente investigación.

Estos resultados demuestran que las superficies y equipos son estructuras las cuales albergan una gran cantidad de cepas bacterianas, en donde la desinfección de estas



no se diferencia de manera significativa a las que no se desinfectan, cabe recalcar que las bacterias aisladas en su mayoría pertenecen a la flora normal de la piel e intestinal, pero la presencia de cepas bacterianas patógenas convierte a estas superficies en posibles fuentes de transmisión bacteriana hacia pacientes y personal de salud. Por tal motivo, la falta de higiene y desinfección es perjudicial para estas superficies ya que puedan formar focos infecciosos y por lo tanto provocar infecciones intrahospitalarias; además, la presencia de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella spp.* en estas superficies implica un problema de salud pública por su capacidad patogénica; estas alertas de salud se pueden prevenir usando desinfectantes de mayor calidad, desinfectando por más tiempo las superficies y siguiendo los protocolos de limpieza y/o desinfección.

#### **4.2. CONTAMINACION BACTERIANA INTRAHOSPITALARIA EN AMBIENTES**

Se sometieron a estudio a setenta y dos muestras que fueron tomadas durante el turno diurno y otras setenta y dos al finalizar el turno diurno, los que se presentan a continuación en la Tabla 10.

**Tabla 10**

*Nivel de contaminación de mesófilos aerobios hallada en el aire durante y al finalizar el turno diurno en las diferentes áreas del servicio de laboratorio clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2” Puno, 2022*

Área	Turno	MB		B		I		A		MA		Total		X <sup>2</sup> c	Valor p
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%		
Bioquímica	Durante	15	83.33	3	16.67	0	0.00	0	0.00	0	0.00	18	100.00	2.480	0.290
	Final	12	66.67	4	22.22	2	11.11	0	0.00	0	0.00	18	100.00		
Hematología	Durante	18	100.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	18	100.00	7.200	7.29 x 10 <sup>-3</sup>
	Final	12	66.67	6	33.33	0	0.00	0	0.00	0	0.00	18	100.00		
Microbiología	Durante	16	88.89	2	11.11	0	0.00	0	0.00	0	0.00	18	100.00	0.360	0.550
	Final	17	94.44	1	5.56	0	0.00	0	0.00	0	0.00	18	100.00		
Toma de muestra	Durante	7	43.75	2	12.50	7	43.75	2	12.50	0	0.00	16	112.50	5.390	0.150
	Final	12	66.67	0	0.00	6	33.33	0	0.00	0	0.00	18	100.00		
Global	Durante	56	77.78	7	9.72	7	9.72	2	2.78	0	0.00	72	100.00	3.040	0.390
	Final	53	73.61	11	15.28	8	11.11	0	0.00	0	0.00	72	100.00		

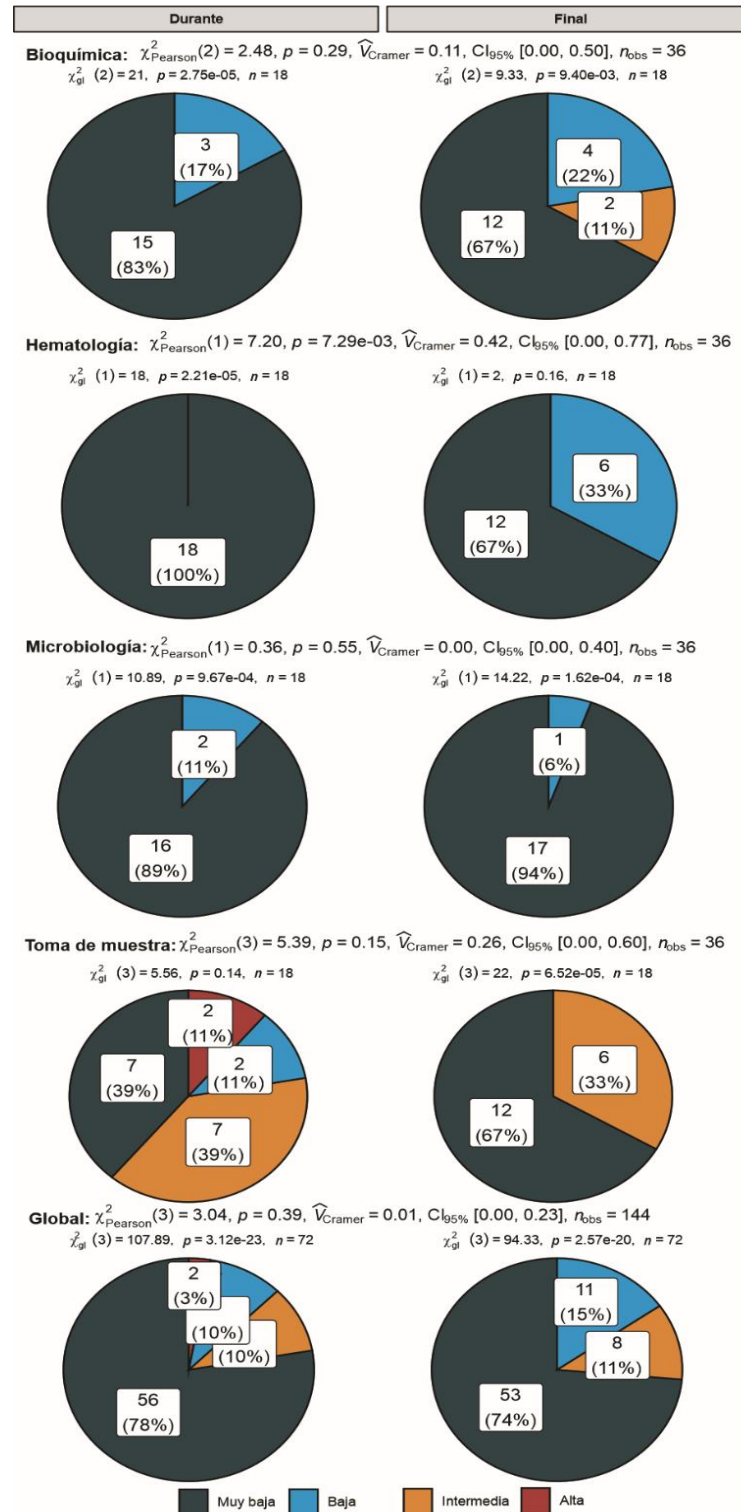
**Nota:** N°= número, %= porcentaje, MB=Muy baja ( $=<50$  UFC/m<sup>3</sup>), B=Baja (50-100 UFC/m<sup>3</sup>), I=Intermedia (100-500 UFC/m<sup>3</sup>), A=Alta (500-2000 UFC/m<sup>3</sup>), MA=Muy alta ( $=> 2000$  UFC/m<sup>3</sup>)

**Fuente:** Elaboración propia

En la Tabla 10 y Figura 4, se puede observar que, durante el turno diurno, un 78% de los ambientes tenían una contaminación muy baja, mientras que intermedia un 10%, baja en 9%, alta en 3% y 0% para muy alta. Asimismo, los ambientes con mayor contaminación de condición alta fueron el área de toma de muestra (2/2), mientras que donde hubo mayor contaminación intermedia y baja fue el área de bioquímica (3/7) y de contaminación muy baja el ambiente de hematología (18/56).

### Figura 4

*Análisis del nivel de contaminación de mesófilos aerobios hallada en el aire durante y al finalizar el turno diurno en las diferentes áreas del servicio de laboratorio clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2” Puno, 2022*



Fuente: Elaboración propia



Asimismo, estos resultados hallados durante el turno diurno difieren de lo encontrado, por Tinoco et al. (2016) quienes hallaron un predominio de cuatro géneros bacterianos, y de contaminación intermedia un 100% de ambientes, por otro lado Rodríguez et al. (2016), también hallaron contaminación de nivel intermedio en 100%, por lo tanto frente a los resultados obtenidos en el presente estudio, demuestra que la calidad del aire del servicio de laboratorio clínico es adecuado para el entorno hospitalario debido a que el mayor porcentaje (78%) resulto en una contaminación muy baja, por ende, se presume que estos ambientes cuentan con una ventilación constante y adecuada, pese a que durante la guardia diurna tanto el personal como los pacientes están en constante contacto con los ambientes; además, esta presencia escasa de bacterias aéreas debe tomarse como una señal de calidad bacteriológica adecuada dentro del servicio de laboratorio clínico la cual no supone un problema de salud pública.

Por otro lado, al finalizar el turno diurno un 74% de áreas resultaron en contaminación bacteriana muy baja, 15% contaminación baja, 11% contaminación intermedia y 0% para alta y muy alta, dando como resultado que la concentración bacteriana en ambientes de laboratorio clínico se mantiene óptima pese a algunos datos elevados en el área de toma de muestras; por lo tanto, se pudo observar que los ambientes con mayor contaminación de condición intermedia fue el área de toma de muestra (6/8), mientras que el ambiente donde hubo contaminación baja fue el área de hematología (6/11) y de contaminación muy baja también esta última área (17/53).

Asimismo, Pérez (2016), en un trabajo realizado en un laboratorio microbiológico halló una contaminación bacteriana intermedia (1/3) y baja (2/3), a la entrada de comedor la contaminación también fue intermedia (3/3), demostrando así que la concurrencia tanto de personal como de pacientes en el área de microbiología alteraba la concentración de bacterias presentes en dichos ambientes; en otro estudio Montaluisa (2018), halló una



contaminación intermedia en las áreas de terapia intensiva (5/5), área de utilería intermedia (3/3) y área de lavado común contaminación baja (1/1), por tal motivo, estos resultados demuestran que la calidad del aire al finalizar el turno diurno comparado con la bibliografía hallada es adecuado para el entorno hospitalario ya que el mayor porcentaje (74%) resulto en una contaminación muy baja, ello se debe a que los ambientes de laboratorio clínico cuentan con una ventilación constante y adecuada, esto se debe a que al finalizar la guardia diurna tanto el personal como los pacientes ya no están en constante contacto con los ambientes.

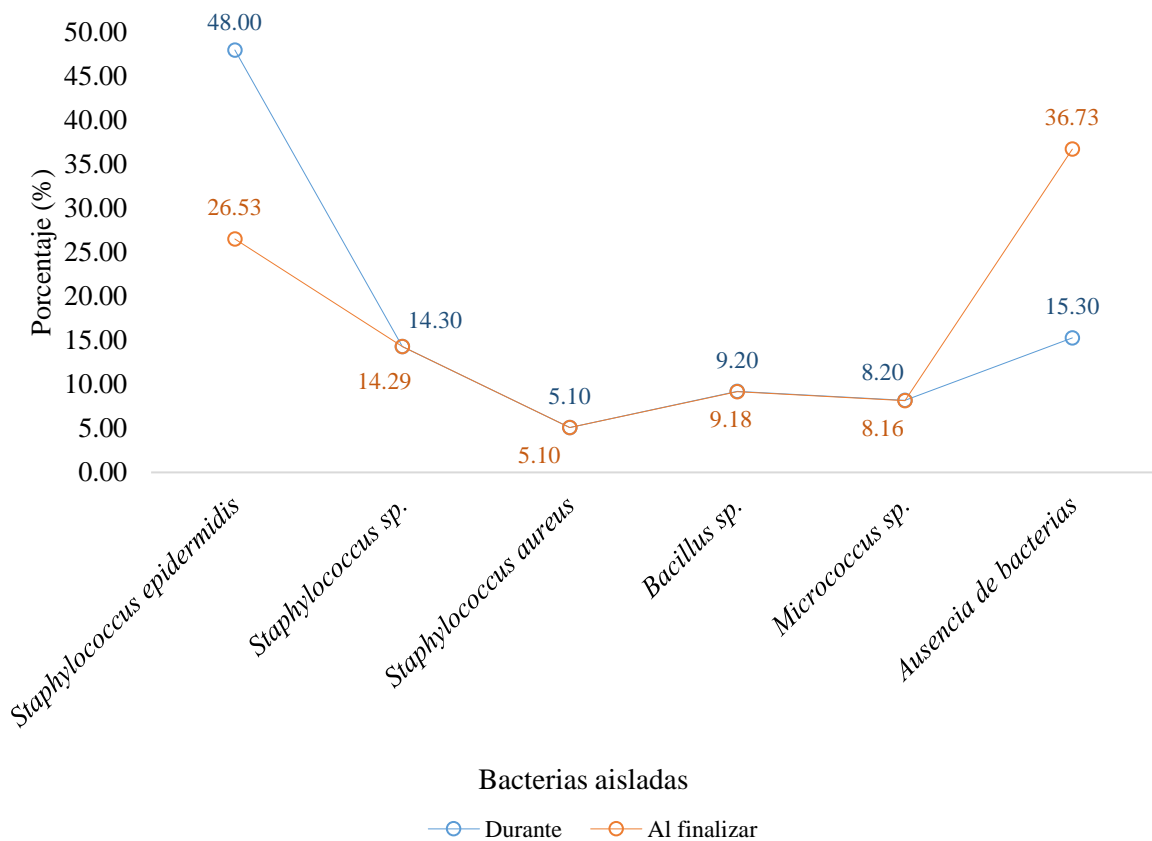
Ademas, luego de realizar la prueba de chi cuadrado con un 95% de confiabilidad, se confirma que no existe diferencia estadística significativa en la calidad bacteriológica presente en todos los ambientes evaluados tanto durante como al finalizar la guardia diurna, debido a que el valor resultante  $\chi^2 = 3.0381$  es menor al de la tabla de chi cuadrado (9.4877). Sin embargo, para el área de hematología si existe una diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) en donde la contaminación no es similar en pre y post-desinfección; además, se puede observar que el nivel de contaminación bacteriana muy baja disminuyó de 78 a 74% al finalizar el turno; el nivel bajo aumentó de 9 a 15%; el intermedio subió ligeramente de 10 a 11% al finalizar el turno diurno; el alto disminuyó de 3 al 0% al finalizar el turno diurno y el nivel muy alto se mantuvo con un 0% de contaminación bacteriana tanto durante como al finalizar el turno diurno. De esta manera, se determina que, la afluencia de personas en los ambientes sometidos a estudio no influye en el nivel de contaminación bacteriana hallada en la presente investigación.

Por lo tanto, estos resultados demuestran que la calidad del aire del servicio de laboratorio clínico es probablemente el adecuado para entornos hospitalarios, debido a que los mayores porcentaje (78% y 74%) hallados tanto durante como al finalizar la guardia diurna, resultaron en una contaminación muy baja, por ello se presume que la

ventilación es constante y adecuada, además la escasa presencia de estas bacterias aéreas debe tomarse como una señal de que la calidad bacteriana es óptimo y no supone un problema de salud pública; por ende, los pacientes y personal de salud están exentos a sufrir una enfermedad asociada a fómites y partículas aéreas; por todo ello, es que la calidad ambiental optima de los recintos hospitalarios es de suma importancia frente a las infecciones intrahospitalarias (IIH).

### Figura 5

*Bacterias contaminantes intrahospitalarias del aire aisladas durante y al finalizar la guardia diurna del servicio de laboratorio clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2”*



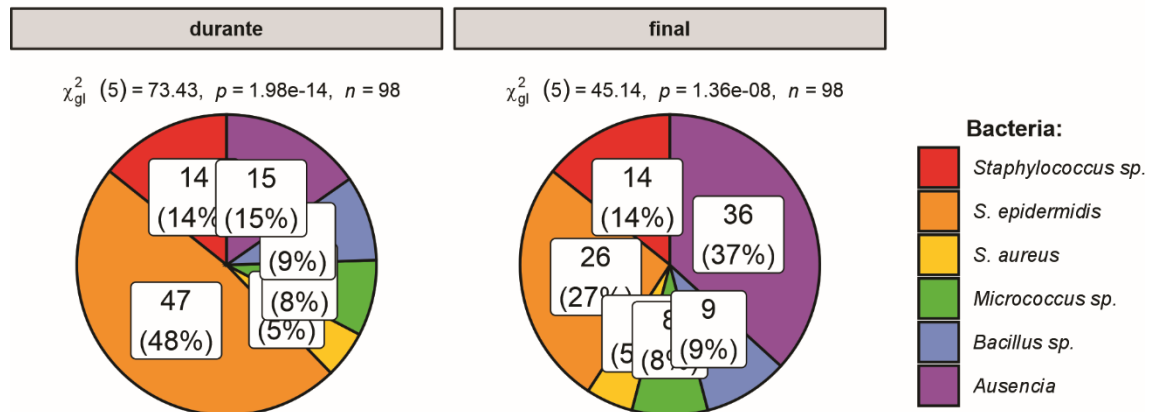
**Fuente:** Elaboración propia



## Figura 6

*Análisis de la presencia de bacterias contaminantes intrahospitalarias del aire aisladas durante y al finalizar la guardia diurna del servicio de laboratorio clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2”*

$$\chi^2_{\text{Pearson}}(5) = 14.69, p = 0.01, \widehat{V}_{\text{Cramer}} = 0.22, \text{CI}_{95\%} [0.00, 0.35], n_{\text{obs}} = 196$$



**Fuente:** Elaboración propia

En la Figura 5 y Figura 6, se dan a conocer las bacterias aisladas en ambientes durante la guardia diurna, en la que se logró identificar a *Staphylococcus epidermidis* (48.0%), *Staphylococcus sp* (14.3%), *Staphylococcus aureus* (5.1%), *Bacillus sp* (9.2%), *Micrococcus sp* (8.2%) y ausencia de bacterias (15.3%), siendo el de mayor presencia el *Staphylococcus epidermidis* (20/43) en el primer muestreo, seguido de *Staphylococcus sp.* (6/43), y *Staphylococcus aureus* con 2/32 en el segundo muestreo, *Bacillus sp.* (4/43), *Micrococcus sp.* (6/43) y por ultimo cabe resaltar que hubo ausencia de bacterias (6/43) en el primer muestreo.

Al respecto, Rodriguez (2016) en su estudio realizado en aire, halló principalmente Gram positivas en un 92.4% en el primer muestreo (79.8% de cocos y 12.6% de bacilos) y 100% en el segundo muestreo (71.25% de cocos y 28.74% de bacilos), en otro estudio realizado por Romero et al. (2016), *Serratia spp.* y *Escherichia coli* en un 17.14%, *Streptococcus spp.* (17.1%) y *Streptococcus spp.* (8.57%); estos



resultados representan que las bacterias identificadas son las esperadas (*Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus sp.*) las cuales pertenecen a la flora normal bacteriana de la piel, las cuales se desprende durante la actividad cotidiana en un laboratorio clínico, por ende la presencia de estas bacterias no denotan una patología completa, sin embargo la presencia de *Staphylococcus aureus* y *Bacillus sp.* aunque sea en menor porcentaje puede provocar a que el ambiente se contamine y sea una fuente de infección intrahospitalaria.

Por otro lado, las bacterias aisladas de ambientes al finalizar el turno diurno, estuvieron representadas por *Staphylococcus epidermidis* (26.5%), *Staphylococcus sp* (14.29%), *Staphylococcus aureus* (5.1%), *Bacillus sp* (9.18%), *Micrococcus sp.* (8.16%) con una ausencia de bacterias (36.7%). Concerniente a lo encontrado aquí, Tinoco et al. (2016), hallaron *Staphylococcus aureus* que guarda relación con lo encontrado en la presente investigación, con 74.3 UFC/m<sup>3</sup> respectivamente, *Bacillus* con 95.5 UFC/m<sup>3</sup>, *Neisseria* 63.7 UFC/m<sup>3</sup>, *Pseudomonas* 42.4 UFC/m<sup>3</sup> y otras cepas bacterianas con 31.8 UFC/m<sup>3</sup>; en un estudio similar realizado por Montaluisa (2018), en un Hospital de las Fuerzas Armadas se determinó, *Staphylococcus coagulasa* negativa en un 78.26%, *Micrococcus* con 15.94% y *Bacillus spp.* con 5.79% de presencia en los cultivos realizados, al respecto, Charca (2019) en su estudio halló *Staphylococcus aureus* en un 50%, *Klebsiella pneumoniae* (16.7%), *Escherichia coli* (8.3%) y 25% de cultivos negativos, en muestras de estetoscopios del personal asistencial de medicina general, lo cual concuerda con lo hallado en la presente investigación.

Por lo tanto, luego de realizar la prueba de chi cuadrado con un 95% de confiabilidad, se puede observar que existe diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) en las bacterias aisladas en los ambientes tanto durante como al finalizar el turno diurno, debido a que el valor resultante  $\chi^2 = 14.6881$  es mayor al de la tabla de chi cuadrado (11.0705). Sin embargo, se puede observar que *Staphylococcus epidermidis* la bacteria



que más se aisló, disminuyó su presencia a 26.53% al finalizar el turno diurno; *Staphylococcus sp.* disminuyó ligeramente de 14.30 a 14.29% al finalizar el turno diurno; *Staphylococcus aureus* se mantuvo con 5.10%; *Bacillus sp.* y *Micrococcus sp.* se mantuvieron con 9.00 y 8.20% respectivamente, variando por decimas sus resultados y por último en ausencia de patógenos se halló un 15.30% durante la guardia diurna y un 36.73% al finalizar la guardia diurna.

Estos resultados posiblemente indiquen que el transporte de muestras patógenas, la afluencia de pacientes y personal de laboratorio, influyen en las especies de bacterias halladas en la presente investigación, tanto durante como al finalizar el turno diurno, estas cepas bacterianas aisladas en su mayoría pertenecen a la flora normal de la piel de las personas, pero la presencia de *Staphylococcus aureus* aun siendo en menor porcentaje indica una posible fuente de transmisión bacteriana hacia pacientes y personal de salud; sumado a esto la falta de higiene, ventilación y desinfección inadecuada de estos ambientes contribuiría a que se formen focos infecciosos para infecciones intrahospitalarias; y por ello es que el estudio de estos ambientes es importante para la salud pública.

### 4.3. RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE BACTERIAS PATÓGENAS INTRAHOSPITALARIAS AISLADAS DE SUPERFICIES INERTES Y EQUIPOS

#### 4.3.1. Bacterias Gram positivas

**Tabla 11**

*Susceptibilidad de Staphylococcus aureus frente a distintos tipos de antibióticos aislados de superficies inertes y equipos del servicio de Laboratorio Clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2”, Puno, 2022*

Antibióticos	Susceptibilidad antibacteriana								$\chi^2c$	Valor p
	S		I		R		Total			
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%		
Clindamicina	10	47.62	7	33.33	4	19.05	21	100.00	2.571	0.276
Cloranfenicol	20	95.24	1	4.76	0	0.00	21	100.00	36.286	1.32 x 10 <sup>-08</sup>
Eritromicina	9	42.86	5	23.81	7	33.33	21	100.00	1.143	0.565
Gentamicina	20	95.24	0	0.00	1	4.76	21	100.00	36.286	1.32 x 10 <sup>-08</sup>
Oxacilina	17	80.95	3	14.29	1	4.76	21	100.00	21.714	1.93 x 10 <sup>-05</sup>
Rifampicina	21	100.00	0	0.00	0	0.00	21	100.00	42.000	7.58 x 10 <sup>-10</sup>
Sulfametoxazol + trimetoprim	21	100.00	0	0.00	0	0.00	21	100.00	42.000	7.58 x 10 <sup>-10</sup>
Vancomicina	21	100.00	0	0.00	0	0.00	21	100.00	42.000	7.58 x 10 <sup>-10</sup>
		$\chi^2c=64.4681$		gl=14		p< 0.05				

**Nota:** N°= numero, %= porcentaje, N°= numero, S=Sensible, I=Intermedio, R=Resistente

**Fuente:** Elaboración propia

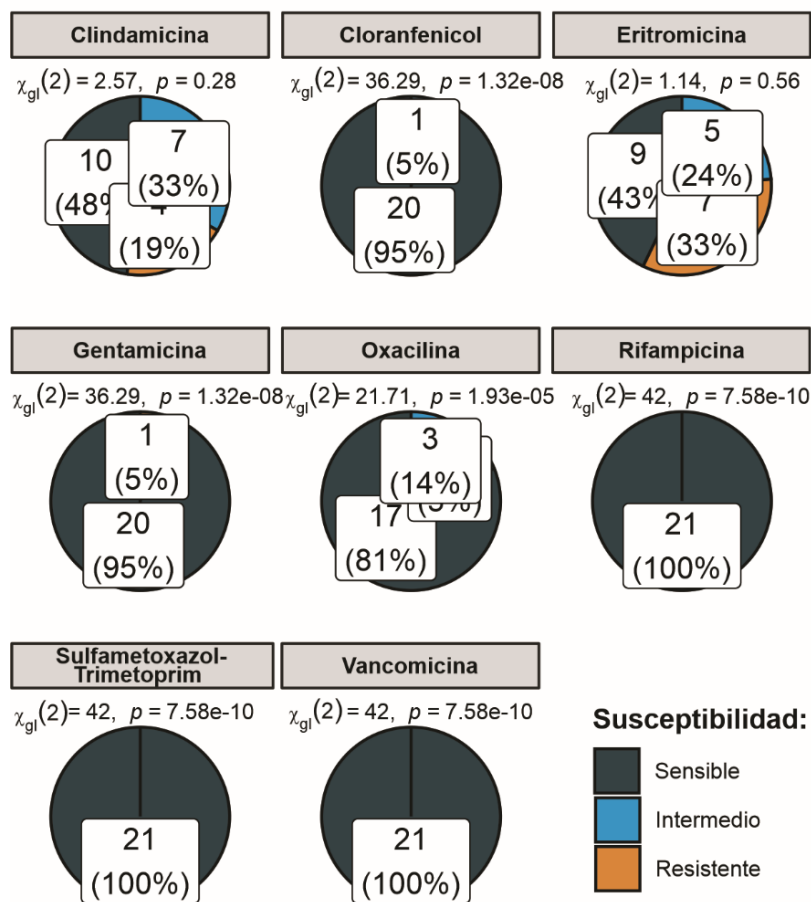
En la Tabla 11 y Figura 7, se observa que luego de realizar la prueba de chi cuadrado con un 95% de confiabilidad, existe diferencia estadística significativa en las sensibilidades a antibacterianos hallados para *Staphylococcus aureus*, debido a que el valor resultante  $\chi^2= 64.4681$  es mayor al de la tabla de chi cuadrado (23.6848). Sin embargo, se puede observar que estas cepas bacterianas

de *Staphylococcus aureus* halladas son más resistentes a eritromicina con hasta 33.3%, seguido de clindamicina 19.0%; oxacilina y gentamicina con 4.7%.

### Figura 7

Análisis de la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* frente a distintos tipos de antibióticos aislados de superficies inertes y equipos del servicio de Laboratorio Clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2”, Puno, 2022

$$\chi^2_{\text{Pearson}}(14) = 64.47, p = 1.90e-08, \widehat{V}_{\text{Cramer}} = 0.39, \text{CI}_{95\%} [0.19, 0.46], n_{\text{obs}} = 168$$



Fuente: Elaboración propia

Asimismo, se puede observar que de 21 cepas de *Staphylococcus aureus*, aisladas en superficies inertes y equipos se encontró frente a eritromicina un 42.8% de susceptibilidad sensible, 23.8% intermedio y 33.3% resistente; a clindamicina fue un 47.6% sensible, 33.3% intermedio y 19% resistente; a

oxacilina fue un 80.9% sensible, 14.2 intermedio y 4.7 resistentes; a cloranfenicol fue un 95.2% sensible y 4.7 intermedio; mientras que 100% fueron sensibles a rifampicina, sulfametoxazol + trimetoprim y vancomicina; siendo eritromicina el antibiótico al cual *Staphylococcus aureus* fue más resistente (7/13) seguido de clindamicina (4/13) resistente, gentamicina y oxacilina (1/13) en ambos casos resistentes, por otro lado rifampicina, sulfametoxazol + trimetoprim y vancomicina resultaron altamente eficaces para las cepas aisladas presentando una susceptibilidad sensible.

De este modo, en la presente investigación para *Staphylococcus aureus* resistente a antibióticos, los resultados fueron similares a lo encontrado por Larico (2022), en Puno, donde halló un 40% de resistencia bacteriana de *S. aureus* hacia eritromicina y clindamicina, oxacilina (20%) y sensibles al 100% a vancomicina, gentamicina, cloranfenicol, sulfametoxazol + trimetoprima, y rifampicina, algo similar a lo encontrado por Gamboa (2016), quien en su estudio realizado en Chimbote, halló *S. aureus* sensible al 100% a vancomicina, rifampicina, cotrimoxazol y resistencia al 100% para penicilina, clindamicina, eritromicina y ampicilina (Gamboa, 2016).

Por el contrario, en otro estudio realizado por Caceres (2015), en Ayacucho, para *S. aureus* encontró resistencia del 100% para oxacilina, cefoxitina, gentamicina, cloranfenicol, eritromicina y ciprofloxacino; (66.67%) resistente a clindamicina y sensible al 100% a vancomicina y teicoplanina, algo similar halló Villalobos (2019), encontrando a *S. aureus* resistente al 100% a amoxicilina/ac. clavulánico, cefepime, ceftriaxona, aztreonam, nitrofurantoina, penicilina, eritromicina, oxacilina, amikacina y ácido nalidíxico; 75% a cefotaxima; 87.5% para norfloxacino, 53.3% para gentamicina y 50 % para



rifampicina, clindamicina, vancomicina y cloranfenicol indicando datos de extrema resistencia frente a cepas de *S. aureus* aislados en hemocultivos de pacientes hospitalizados.

Estos resultados se deben principalmente a que estas cepas aisladas pueden poseer algunos mecanismos de resistencia, tales como el fenómeno BORSA el cual confiere resistencia a meticilina y oxacilina (penicilinas) en donde *S. aureus* crea genes, tales como *mecA* el cual codifica PBP2a proteína que sintetiza peptidoglucano aun en presencia de antibiótico; otro gen importante se da en el fenotipo  $\epsilon$ MLSB del gen *erm* el cual impide que el medicamento llegue a su diana por acción de metilasas, importante para los antibióticos como clindamicina y eritromicina (macrolidos), asimismo el mecanismo  $\mu$ MLSB se produce mediante los genes *msrA* y *mef*, quienes mediante este mecanismo provocan una resistencia cruzada de eritromicina hacia clindamicina es por ello que observamos cepas resistentes a ambos antibióticos; por otro lado, otro mecanismo no muy usual es el provocado por el fenotipo MSb el cual actúa mediante bombas de eflujo y expulsión activa mediadas por el gen *msrA*, pero también están asociados a los genes *mefA* y *mefE* quien confieren resistencia hacia la eritromicina, pero no a la clindamicina; asimismo *S. aureus* resistente a meticilina, puede convertirse resistente a la gentamicina (aminoglucosido), mediante los mecanismos de resistencia provocados por los genes *aac* (6') y *aph* (2'') los cuales mediante acción enzimática alteran a los aminoglucosidos (Kenneth & Ray, 2021; Stearns et al., 2019).

La presencia de cepas de *S. aureus* resistente a antibióticos, las cuales fueron aisladas de superficies de laboratorio clínico es un signo de alerta, debido a que su sola presencia puede llegar a convertirse en parte de un foco infeccioso el cual

lleva ser un problema de salud pública; asimismo es importante saber estos mecanismos de resistencia pueden afectar aun mas la calidad de vida de los pacientes y trabajadores de salud que resulten contaminados con estas cepas resistentes; todo ello se puede prevenir realizando una limpieza y desinfección adecuados en las superficies de laboratorio clínico.

#### 4.3.2. Bacterias Gram negativas

**Tabla 12**

*Susceptibilidad de Escherichia coli frente a distintos tipos de antibióticos aislados de superficies inertes y equipos del servicio de Laboratorio Clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2”, Puno, 2022*

Antibióticos	Susceptibilidad antibacteriana								$\chi^2_c$	Valor p
	S		I		R		Total			
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%		
Amikacina	7	100.00	0	0.00	0	0.00	7	100.00	14.000	$9.12 \times 10^{-04}$
Amoxicilina/ac. clavulánico	5	71.43	0	0.00	2	28.57	7	100.00	5.429	$6.63 \times 10^{-02}$
Ampicilina/sulbactam	6	85.71	0	0.00	1	14.29	7	100.00	8.857	$1.19 \times 10^{-02}$
Cefalotina	7	100.00	0	0.00	0	0.00	7	100.00	14.000	$9.12 \times 10^{-04}$
Ceftriaxona	6	85.71	0	0.00	1	14.29	7	100.00	8.857	$1.19 \times 10^{-02}$
Cloranfenicol	7	100.00	0	0.00	0	0.00	7	100.00	14.000	$9.12 \times 10^{-04}$
Gentamicina	5	71.43	1	14.29	1	14.29	7	100.00	4.571	$1.02 \times 10^{-01}$
Sulfametoxazol + trimetoprim	4	57.14	1	14.29	2	28.57	7	100.00	2.000	$3.68 \times 10^{-01}$
		$\chi^2_c=13.0820$		gl=14		p> 0.05				

**Nota:** N°= numero, %= porcentaje, N°= numero, S=Sensible, I=Intermedio, R=Resistente

**Fuente:** Elaboración propia

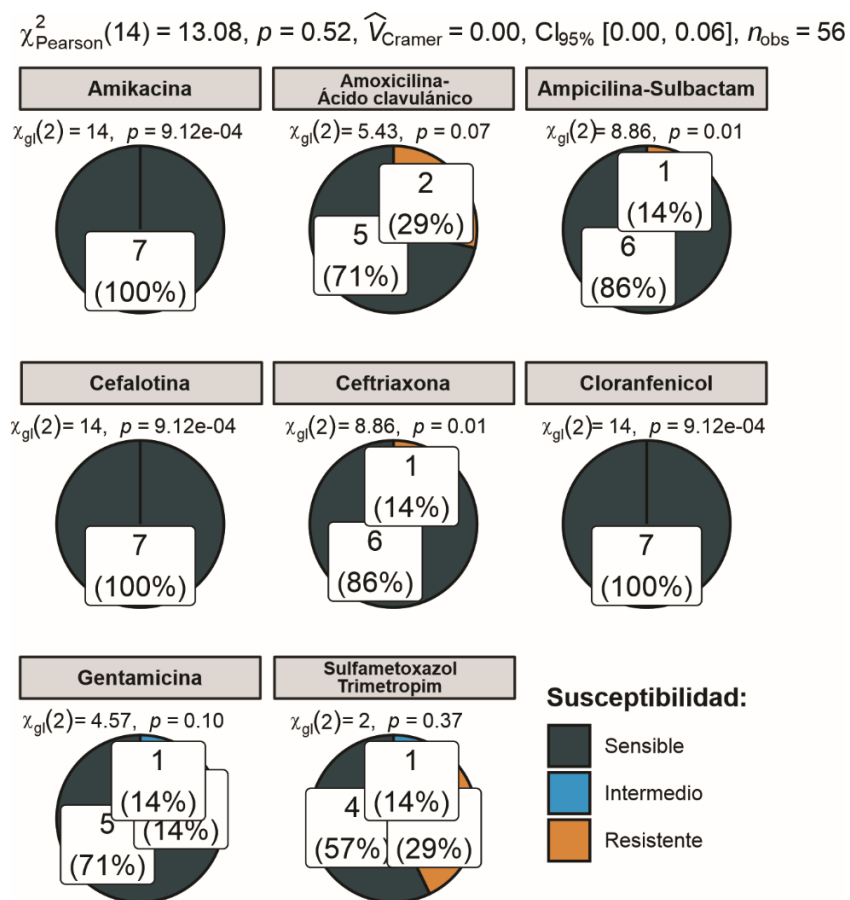
En la Tabla 12 y Figura 8, luego de realizar la prueba de chi cuadrado con un 95% de confiabilidad, se puede observar que no existe diferencia estadística significativa en las sensibilidades a antibacterianos hallados para *Escherichia coli*, debido a que el valor resultante  $\chi^2= 13.0820$  es menor al de la tabla de chi – cuadrado (23.6848). Sin embargo, se puede observar que estas cepas bacterianas



de *Escherichia coli* halladas fueron más resistentes a sulfametoxazol y amoxicilina + ácido clavulánico (28.5%), seguido de gentamicina, ampicilina + sulbactam y ceftriaxona con una resistencia de 14.2%.

### Figura 8

*Análisis de la susceptibilidad de Escherichia coli frente a distintos tipos de antibióticos aislados de superficies inertes y equipos del servicio de Laboratorio Clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2”, Puno, 2022*



**Fuente:** Elaboración propia

Asimismo, se vio que estas cepas de *Escherichia coli* aisladas, todas fueron sensibles ante amikacina, cefalotina y cloranfenicol. Por ello es que se determina que, el uso de diferentes medicamentos antibacterianos usados para cepas de *Escherichia coli* no influye en las sensibilidades obtenidas.



En la presente investigación, se halló *Escherichia coli* resistente a antibióticos, lo cual concuerda con Larico (2022), quien halló *Escherichia coli* resistente a amoxicilina/ac. clavulánico (50%) y a cefalotina una resistencia intermedia (50%) (Larico, 2022); en otro estudio, Barreda (2022), encontró resistencia del 100% a cefazolina y amoxicilina/ ácido clavulánico, por otro lado, Guajardo et al. (2009), en su estudio aisló *Escherichia coli* resistente a ampicilina (67.2%), trimetoprim-sulfametoxazol (59.2%), cefazolina (35.6%) y ciprofloxacino (24.7%), asimismo, Huanca (2022), halló en muestras de orina a *Escherichia coli* resistente a amikacina (100%), ceftriaxona, nitrofurantoina e imipenem.

Estos resultados se deberían a que las cepas aisladas probablemente disponen de algún tipo de mecanismo de resistencia, en donde para enterobacterias como *E. coli* estas crean betalactamasas de clases A, B, C o D, en donde para amoxicilina/ac. clavulánico y ampicilina/ sulbactam, la *E. coli* genera resistencia clase A mediante los genes TEM-1, TEM-2 y SHV (Betalactamasas de amplio espectro) a través de reacciones hidrolíticas que alteran al antibiótico; para cefalotina (cefalosporina de 1ra generación) su hidrólisis ocurre mediante betalactamasas tipo AmpC (clase C), asimismo si este gen es hiperproducido, genera resistencia a ceftriaxona (cefalosporina de tercera generación) como lo hallado en esta investigación; para gentamicina (aminoglucósido) la resistencia podría estar mediada por los genes aac-2', aac-3', aph2', y ant-2' que inactivan algunas enzimas. Por último, en el caso de sulfametoxazol + trimetoprim la resistencia ocurriría mediante enzimas plasmídicas codificadas por los genes sul1 y sul2 los cuales producen resistencia a sulfonamidas a través de formas mutantes de la enzima blanco (las sulfonamidas no reconoce su sitio de acción) y para

trimetoprim la hiperproducción de enzimas codificadas producen formas mutantes mediante el gen *dfr* (Riedel et al., 2019).

La presencia de cepas de *E. coli* resistentes a antibióticos, aislados en superficies y ambiente son de suma importancia por los tipos de infecciones que pueden provocar tanto en pacientes sanos como enfermos, asimismo, las cepas de *E. coli* son de las bacterias más aisladas en infecciones intrahospitalarias, por ello es que el aumento de resistencia antibiótica de estas cepas son un problema de salud pública el cual se puede prevenir con una adecuada desinfección y limpieza; en superficies y ambientes en el servicio de laboratorio clínico (Larico, 2022).

**Tabla 13**

*Susceptibilidad de Klebsiella spp. frente a distintos tipos de antibióticos aislados de superficies inertes y equipos del servicio de Laboratorio Clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2”, Puno, 2022*

Antibióticos	Susceptibilidad antibacteriana								$\chi^2_c$	Valor p	
	S		I		R		Total				
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%			
Amikacina	1	100.00	0	0.00	0	0.00	1	100.00	2.000	0.368	
Amoxicilina/ac. clavulánico	1	100.00	0	0.00	0	0.00	1	100.00	2.000	0.368	
Ampicilina/Sulbactam	0	0.00	0	0.00	1	100.00	1	100.00	2.000	0.368	
Aztreonam	1	100.00	0	0.00	0	0.00	1	100.00	2.000	0.368	
Ceftriaxona	1	100.00	0	0.00	0	0.00	1	100.00	2.000	0.368	
Ciprofloxacino	1	100.00	0	0.00	0	0.00	1	100.00	2.000	0.368	
Imipenem	1	100.00	0	0.00	0	0.00	1	100.00	2.000	0.368	
Sulfametoxazol trimetoprim	+	0	0.00	1	100.00	0	0.00	1	100.00	2.000	0.368

$\chi^2_c=16.000$        $gl=14$        $p> 0.05$

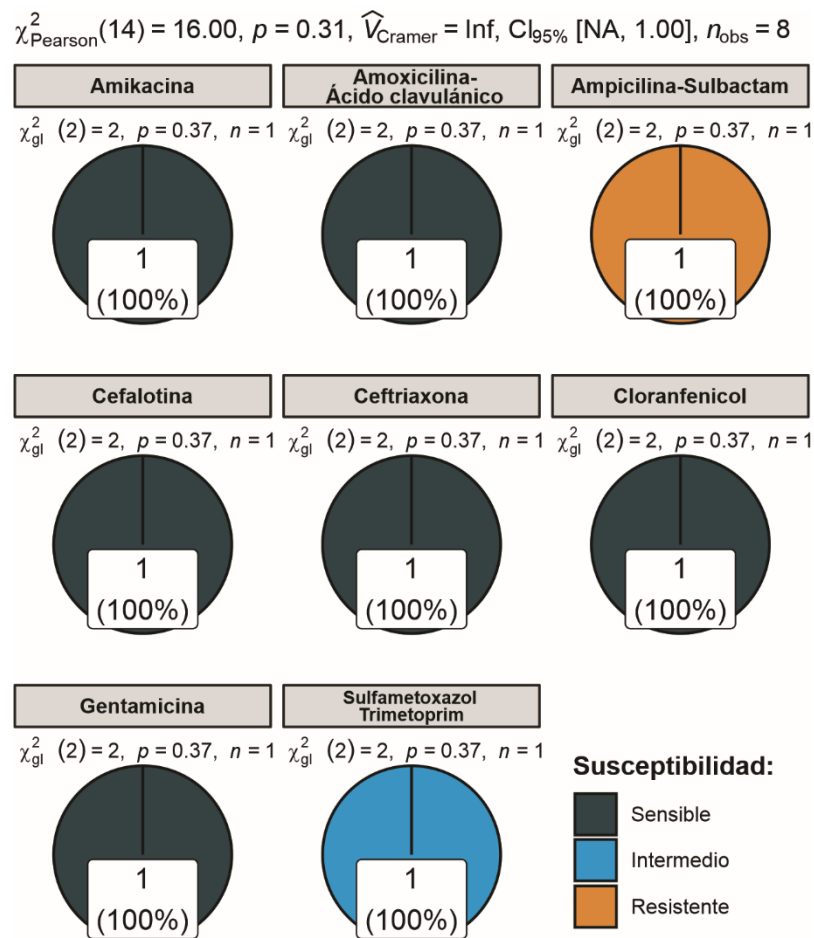
**Nota:** N°= número, %= porcentaje, N°= numero, S=Sensible, I=Intermedio, R=Resistente

**Fuente:** Elaboración propia

En la Tabla 13 y Figura 9, luego de realizar la prueba de chi cuadrado con un 95% de confiabilidad, se puede observar que no existe diferencia estadística significativa ( $p > 0.05$ ) en las sensibilidades a antibacterianos hallados para *Klebsiella spp.* debido a que el valor resultante  $\chi^2 = 16.0000$  es menor al de la tabla de chi – cuadrado (23.6848). Sin embargo, se puede observar que las cepas de *Klebsiella spp.* evaluadas son resistentes a ampicilina + sulbactam en un 100%; con sensibilidad intermedia a sulfametoxazol + trimetoprim en un 100%.

### Figura 9

Análisis de la susceptibilidad de *Klebsiella spp.* frente a distintos tipos de antibióticos aislados de superficies inertes y equipos del servicio de Laboratorio Clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2”, Puno, 2022



Fuente: Elaboración propia



Asimismo, se vio que estas cepas de *Klebsiella spp.* aisladas, fueron completamente sensibles (100%) a la amoxicilina + ácido clavulánico, aztreonam, ceftriaxona, ciprofloxacino e imipenem. De esta manera, se determina que, el uso de diferentes medicamentos antibacterianos usados para cepas de *Klebsiella spp.* no influye en las sensibilidades obtenidas en la presente investigación.

Lo encontrado en este estudio difiere de lo reportado por Gamboa (2016), quien aisló *Klebsiella pneumoniae* con 100% de sensibilidad a cefalosporinas, amikacina, imipenem, ertapenem y meropenem; asimismo, Zapata (2021) halló *Klebsiella pneumoniae* resistente a ampicilina (100%); trimetoprima/sulfametoxazol (81%), norfloxacino (80%), ciprofloxacino (71%), cefuroxima (70%), cefotaxima (64%) y ceftazidima (62%), caso similar a Arias (2016), quien aisló *Klebsiella pneumoniae* con un elevado porcentaje de resistencia a ampicilina 89.8% y trimetoprima/sulfametoxazol 61.7%, estos resultados se deben a que las cepas de *Klebsiella spp.* al igual que las cepas aisladas de *E. coli* presentan diversos mecanismos de resistencia antimicrobiana, en donde para ampicilina/sulbactam (penicilina - betalactámico) estas cepas crean B-lactamasas de tipo AmpC, los cuales además de hidrolizar la ampicilina también son capaces de hidrolizar cefalosporinas de 1ra y 2da generación, asimismo para sulfametoxazol + trimetoprim la resistencia se da mediante enzimas plasmídicas, quienes para la resistencia a sulfonamidas están codificadas por los genes *sul1* y *sul2* los cuales mediante la creación de formas mutantes de la enzima blanco es que crean resistencia a este fármaco (las sulfonamidas no reconocen su sitio de acción) y para trimetoprim el gen *dhfr* producen formas mutantes mediante la hiperproducción de enzimas codificadas (Riedel et al., 2019).



La presencia de cepas de *Klebsiella spp.* resistentes a antibióticos, aislados en superficies y ambiente son de suma importancia por las infecciones que puede causar dentro de un recinto hospitalario, asimismo estas cepas que cuentan con una resistencia antibiótica elevada son un problema de salud pública el cual se puede prevenir realizando una adecuada desinfección y limpieza; en superficies y ambientes en el servicio de laboratorio clínico.



## V. CONCLUSIONES

- La calidad bacteriológica de superficies inertes y en equipos de Laboratorio Clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2” determinada mediante mesófilos viables en pre desinfección indica un 37% de contaminación intolerable, 28% contaminación tolerable y 35% a optimo (sin contaminación); mientras que, en post desinfección la ausencia de contaminación fue de 49% (optimo), contaminación intolerable 29% y contaminación tolerable 22%, siendo el área de bioquímica el de mayor presencia de contaminación bacteriana (pre  $5.7 \cdot 10^2$  UFC/cm<sup>2</sup>, post  $1.7 \cdot 10^2$  UFC/cm<sup>2</sup>). Asimismo, no hubo diferencias significativas en la calidad bacteriológica pre y post desinfección ( $\chi^2=3.2808$ ;  $p>0.05$ ), por lo cual la desinfección realizada no altera la calidad de las superficies, por lo que no es la adecuada; en cuanto a la bacteria más frecuente *Staphylococcus epidermidis* con 41.3% y 49.3% en pre y post-desinfección respectivamente ( $\chi^2=10.7774$ ;  $p>0.05$ ), es la cepa bacteriana esperada para las superficies muestreadas.
- La calidad bacteriológica del aire en ambientes de Laboratorio Clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2” establecida mediante mesófilos viables indica que el nivel de contaminación bacteriana en la guardia diurna fue principalmente bajo durante (78%) y al finalizar (74%) la misma, siendo toma de muestra el área con mayor presencia de concentración bacteriana (durante  $6.28 \cdot 10^2$  UFC/m<sup>3</sup>, final  $2.88 \cdot 10^2$  UFC/m<sup>3</sup>). Asimismo, no hubo diferencias significativas en la calidad bacteriológica del aire durante y al finalizar la guardia diurna ( $\chi^2=3.0381$ ;  $p>0.05$ ), por lo cual la calidad bacteriológica es adecuada y no se altera, pero sí en cuanto a la bacteria mas aislada: *Staphylococcus epidermidis* (durante 48%, final 26.5%)



- ( $\chi^2=14.6881$ ;  $p<0.05$ ), siendo también la cepa bacteriana esperada para estas muestras de aire.
- La resistencia antimicrobiana de veintiún cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de superficies inertes y equipos si mostró diferencias significativas ( $\chi^2=64.4681$ ;  $p<0.05$ ) principalmente a clindamicina 19.0% y eritromicina 33.3%, mientras que fue sensible a rifampicina, sulfametoxazol + trimetoprim y vancomicina en un 100%; concerniente a las siete cepas de *Escherichia coli*, no hubo diferencias estadísticas en el porcentaje de resistencia antibiótica ( $\chi^2=13.0820$ ;  $p>0.05$ ) no obstante presentó resistencia especialmente a amoxicilina/ácido Clavulánico y sulfametoxazol/trimetoprima 28.5% Finalmente, en una cepa de *Klebsiella spp.*, tampoco hubo diferencias significativas en la resistencia antibiótica ( $\chi^2=16.0000$ ;  $p>0.05$ ), sin embargo, presentó 100% de resistencia a ampicilina-sulbactam. Por ende, en las superficies evaluadas si existen bacterias patógenas que cuentan con mecanismos de resistencia antimicrobiana en las áreas de laboratorio clínico, lo cual es un problema de salud pública.





## VI. RECOMENDACIONES

- Ampliar las investigaciones acerca de contaminación intrahospitalaria a otros servicios entre ellos UCI y comparar el nivel de contaminación bacteriana.
- Realizar investigaciones de contaminación bacteriana en el aire de servicios de hospitalización y correlacionar con infecciones intrahospitalarias.
- Evaluar la efectividad de los protocolos de limpieza y desinfección en el Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2”, Puno, mediante los procedimientos desarrollados en esta investigación realizando una evaluación longitudinal de varios puntos en el tiempo.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abad, K. J. (2016). *Valoracion de la calidad microbiologica de los ambientes de las areas de trabajo del laboratorio de aguas de proactiva de Monteria S.A. E.S.P.* [Tesis de pregrado, Universidad de Cordova]. <https://www.studocu.com/co/document/universidad-de-los-llanos/biologia/valoracion-de-la-calidad-microbiologica-de-los-ambientes-de-las-areas-de-trabajo-del-laboratorio/56151075>
- Acosta, S. (2011). Manual de control de infecciones y epidemiologia hospitalaria. En P. Ramon (Ed.), *Organizacion Panamerica de la Salud* (OPS, Vol. 1). PALTEX. [https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51545/ControlInfecHospitalarias\\_spa.pdf?sequence=1](https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51545/ControlInfecHospitalarias_spa.pdf?sequence=1)
- Aguilar, M. P., & Zajami, S. K. (2020). *Eficacia de tres desinfectantes sobre la contaminación microbiana en superficies de una botica de Chilca, Huancayo 2019* [Tesis de pregrado, Universidad Peruana los Andes]. <https://repositorio.upla.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12848/1935/TESIS%20FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Alados, J. C., Garcia, E. G., Leiva, J., Pérez, J., & Rojo, E. (2014). *Procedimientos en microbiologia clinica: seguridad en el laboratorio de microbiologia clinica* (E. Cercenado Mansilla & R. Canton Moreno, Eds.; SEIMC, Vol. 10). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica. <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia10a.pdf>
- Altamirano, K. A. (2016). *Toma de muestra bacteriológica en paciente con enfermedad periodontal* [Tesis de pregrado, Universidad de Guayaquil]. <https://repositorio.ug.edu.ec/server/api/core/bitstreams/168e5c9b-1dda-492d-91f5-a9e896fed7d1/content>
- Alvarado, M. J., Tuesta, M. N., & Zuñiga, M. A. (2018). *Contaminación bacteriana y tipo de bacterias en teléfonos celulares del personal de salud en la unidad de*



- cuidados intensivos, Hospital Nacional 2017* [Tesis de pregrado, Universidad Peruana Cayetano Heredia]. <https://repositorio.upch.edu.pe>
- Arias, N. (2016). *Resistencia antibiótica bacteriana en un Hospital en la ciudad de Lima* [Tesis de pregrado, Universidad Científica del Sur]. [https://repositorio.cientifica.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12805/211/TL-Arias\\_Arias.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://repositorio.cientifica.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12805/211/TL-Arias_Arias.pdf?sequence=2&isAllowed=y)
- Arias, R., Rosado, U., Vargas, A., & Grajales, C. (2016). Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales en el Instituto Mexicano del Seguro Social Microorganisms responsible of nosocomial infections in the Instituto Mexicano del Seguro Social. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*, 54(1), 20-24. <https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2016/im161d.pdf>
- Arredondo, J. L., & Villicaña, R. J. (2013). *Atlas Bacteriologico* (S. Giono & M. Rodriguez, Eds.; Comarketing). Bayer Health. <https://es.slideshare.net/slideshow/atlas-bacteriologico-bayerpdf/255266842>
- Aucancela, N. E., Mesa, I. C., Ramírez, A. A., Moyano, E. G., Ordoñez, D. M., & Carchipulla, C. J. (2021). Microorganismos aislados en superficies de unidades críticas en un hospital de segundo nivel. *Pro Sciences. Pro Sciences: Revista de Producción, Ciencias e Investigación*, 5(40), 179-198. <https://doi.org/10.29018/issn.2588-1000vol5iss40.2021pp179-198>
- Barreda Calcina, N. D. (2022). *Resistencia antimicrobiana de patógenos intrahospitalarios en ambientes de neonatología del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón De Puno-2020* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Altiplano]. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/20.500.14082/18653>
- Bonifacio, M. G., & Huzco, C. (2019a). *EFICACIA DE PROCEDIMIENTOS DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN SOBRE LA CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA EN SUPERFICIES DE UN CENTRO DE SALUD*.
- Bonifacio, M. G., & Huzco, C. (2019b). *Eficacia de procedimientos de limpieza y desinfección sobre la contaminación microbiológica en superficies de un centro de salud* [Tesis de pregrado, Universidad Peruana Los Andes]. <https://repositorio.upla.edu.pe/handle/20.500.12848/1038>



- Bush, L. M. (2022). Infecciones por Klebsiella, Enterobacter y Serratia. *Charles E. Schmidt College of Medicine*, 1-8. <https://www.msmanuals.com/>
- Caceres, G. L. (2015). *Infecciones bacterianas intrahospitalarias en neonatos y sensibilidad a los antibióticos en el Hospital Regional de Ayacucho Miguel Ángel Mariscal Llerena, Ayacucho-2014* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga]. <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/2243>
- Caisahuana, L., & Zavala, G. I. (2020). *Eficacia de la desinfección sobre la contaminación microbiana en superficies hospitalarias, Huancayo 2019* [Tesis de Pregrado, Universidad Peruana Los Andes]. <https://repositorio.upla.edu.pe/handle/20.500.12848/1669>
- Carhuachunchay, M. E., & Sandoval, S. F. (2018). *Contaminación Microbiológica de superficies de la unidad dental antes y después de una apertura cameral en la Clínica Estomatológica de la Universidad César Vallejo, Piura 2018* [Tesis de pregrado, Universidad Cesar Vallejo]. <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/26343>
- Castañeda, J. L., & Ordoñez, J. (2014). La supervivencia de los gérmenes intrahospitalarios en superficies inanimadas. *Rev. de enfermedades infecciosas en pediatría*, XXVII (107), 394-396. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revenfinfped/eip-2014/eip141a.pdf>
- Castellano, M., Perozo, A., & Lela, J. (2018). Frecuencia y resistencia antimicrobiana en Staphylococcus. *Redalyc*, 46(1), 25-29. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/kasmera/article/view/24651>
- Ccencho, A. P., & Quispe, Y. G. (2018). *Aplicación de un protocolo de limpieza y desinfección para disminuir la contaminación microbiana en instrumentos y equipos de rehabilitación* [Tesis de Pregrado, Universidad Peruana los Andes]. <https://repositorio.upla.edu.pe/handle/20.500.12848/408>
- Cervantes, E., García, R., & Salazar, P. (2014). Características generales del Staphylococcus aureus. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab*, 61(1), 28-40. [www.medigraphic.org.mx/patologiaclinica](http://www.medigraphic.org.mx/patologiaclinica)



- Charca, L. (2019). *Staplylococcus aureus, Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae en estetoscopios del personal asistencial y en los ambientes de medicina general del Hospital Regional Manuel Nuñez Butron* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Altiplano]. <http://tesis.unap.edu.pe/handle/20.500.14082/11069>
- Chiong, M., Leisewitz, A., Marquez, F., Vironneae, L., Alvarez, M., Tischler, N., Piñones, O., & Moreno, R. (2018). *Manual de normas de bioseguridad y riesgos asociados*. [https://www.conicyt.cl/fondecyt/files/2018/06/Manual-\\_Bioseguridad-\\_junio\\_2018.pdf](https://www.conicyt.cl/fondecyt/files/2018/06/Manual-_Bioseguridad-_junio_2018.pdf)
- Chura, Y. F. (2017). *Contaminación bacteriana en termómetros clínicos relacionados a patógenos causantes de infecciones intrahospitalarias en el servicio de pediatría del Hospital Carlos Monge Medrano De Juliaca 2016* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Altiplano]. <https://tesis.unap.edu.pe/handle/20.500.14082/4068>
- Cisneros, S. N., Romero, D. A., Cacho, I., & Vargas, R. (2019). Microorganismos aislados en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) del Hospital Militar de Especialidades de la Mujer y Neonatología. *Revista de Sanidad Militar*, 73(5-6), 269-276. <https://doi.org/10.35366/93325>
- De la Rosa, M., Prieto, J., & Navarro, J. (2015). *Microbiología en ciencias de la salud*. En *Elsevier* (Tercera edición). Elsevier.
- Díaz, E., Mayo, O., Miró, I., Pérez, Y., & Tsoraeva, A. (2017). Determinación de la eficacia de los desinfectantes empleados en las áreas asépticas de un centro productor de biofarmacéuticos. *VacciMonitor*, 26(2), 54-59. <http://scielo.sld.cu/pdf/vac/v26n2/vac02217.pdf>
- Díaz, K. C., López, K. L., Vergara, M. A., Santamaría, O., Serquén, L. M., Bustamante, O., León, F. E., & Aguilar, F.-R. (2018). Patrón de clonalidad mediante ERIC-PCR y REP-PCR de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de betalactamasas de espectro extendido, aisladas de pacientes con infección urinaria intrahospitalaria del Hospital Regional Lambayeque, Perú. *Horizonte Médico (Lima)*, 18(2), 11-18. <https://doi.org/10.24265/horizmed.2018.v18n2.03>



- Egoavil, H. M., & Perez, B. J. (2018). *Efecto de un protocolo de limpieza y desinfección sobre la contaminación microbiana al interior de un establecimiento farmacéutico* [Tesis de pregrado, Universidad Peruana los Andes]. <https://repositorio.upla.edu.pe/handle/20.500.12848/759>
- Engleberg, N. Cary., Dirita, V., & Dermody, T. (2013). *Schaechter Mecanismos de las enfermedades microbianas* (W. Lippincott & Wilins, Eds.; 5ta edicion). Wolters Kluwer Health.
- Escobedo, A. B., Meneses, M. de la C., & Castro, A. (2016). Estudio microbiológico (cualitativo y cuantitativo) de superficies inertes que están en contacto con la preparación de alimentos en cafeterías de una universidad pública. *Rev. electronica sobre Cuerpos Academicos y Grupos de Investigacion en Iberoamerica*, 3(6), 1-29. <https://www.cagi.org.mx/index.php/CAGI/article/view/112/168>
- Espinoza, A. E. (2017). *Contaminación de bacterias patógenas en teléfonos celulares del personal de salud del Hospital Daniel Alcides Carrión - Huancayo* [Tesis de pregrado, Universidad Peruana Los Andes]. <https://repositorio.upla.edu.pe/handle/20.500.12848/153>
- Estrella, J. M., Luna, K. Y., & Rodriguez, G. A. (2020). *Evaluacion del uso de antibioticos betalactamicos en los servicios de uci neonatal e intermedia de la clinica materno infantil casa del niño de Monteria* [Tesis de pregrado, Universidad de Cordoba]. <https://repositorio.unicordoba.edu.co>
- Flores, J. (2015). *Contaminación bacteriana en piezas de mano de alta velocidad utilizadas en la Clínica Estomatológica de la Universidad Señor de Sipán, Lambayeque – Perú, 2015* [Tesis de pregrado, Universidad Señor de Sipán]. <https://repositorio.uss.edu.pe/handle/20.500.12802/75>
- Fredes, R. H. (2020). *Nivel de contaminación microbiológica de las piezas de mano de alta velocidad en tres cursos clínicos de los laboratorios odontológicos de la Universidad Nacional Del Altiplano Puno - 2018* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Altiplano]. <http://tesis.unap.edu.pe/handle/20.500.14082/13774>



- Gamboa, V. (2016). *Frecuencia y susceptibilidad de agentes bacterianos en hemocultivos de pacientes del Hospital III Essalud, Chimbote 2015* [Tesis de pregrado, Universidad San Pedro]. <https://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/2676595>
- Garro, G. M., & Quispe, Z. E. (2014). *Protocolo: estudio prevalencia de infecciones intrahospitalarias Lima-Perú* (M. Yagui, Ed.; DGE). Biblioteca Nacional del Perú. [www.dge.gob.pe](http://www.dge.gob.pe)
- Gilbonio, J., & Rodriguez, M. (2018). *Efecto de un programa de limpieza y desinfección sobre la contaminación microbiana en consultorios odontológicos al interior de un centro de salud, El Tambo – 2018* [Tesis de pregrado, Universidad Peruana los Andes]. <https://repositorio.upla.edu.pe/handle/20.500.12848/728>
- Gómez, J., García, E., & Hernández, A. (2015). Los betalactámicos en la práctica clínica. *Rev Esp Quimioter*, 28(1), 1-9. [https://seq.es/wp-content/uploads/2015/02/seq\\_0214-3429\\_28\\_1\\_gomez.pdf](https://seq.es/wp-content/uploads/2015/02/seq_0214-3429_28_1_gomez.pdf)
- Gonzales, S. L., Lozada, M., & Santiago, I. (2014). Análisis bacteriológico de superficies inertes Bacteriological analysis of inert surfaces. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(3), 314-320. <http://scielo.sld.cu/scielo.php>
- Guajardo, C. E., González, P., Ayala, J., & Ayala, G. (2009). Resistencia antimicrobiana en la infección urinaria por Escherichia coli adquirida en la comunidad. ¿Cuál antibiótico voy a usar? *Scielo*, 51(2), 155-159. <https://www.scielo.org.mx/scielo.php>
- Herrero, I. (2020). Detección de factores de virulencia en cepas de Staphylococcus spp. de origen nasal y epidérmico: estafilotoxinas, resistencia a antibióticos y fagoterapia [Tesis de pregrado, Universidad de Almería]. En *Universidad de Almería*. <https://repositorio.ual.es/handle/10835/9898?show=full>
- Huanca, R. (2022). *Uropatógenos y susceptibilidad antibacteriana en pacientes menores de 5 años del servicio de pediatría del Hospital Carlos Monge Medrano San Román-2019* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Altiplano].





[https://tesis.unap.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14082/18145/Huanca\\_Chipana\\_Rosi.pdf](https://tesis.unap.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14082/18145/Huanca_Chipana_Rosi.pdf)

Huarcaya, F., Calle, S., Siuce, J., Sedano, A., Huamaní, Jhonatan., García, A., Álvarez, L., & Gonzales, S. (2022). Serotipificación y detección genética de *Salmonella* spp de origen aviar. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru*, 33(3). <https://doi.org/10.15381/RIVEP.V33I3.22893>

Janampa, C. E. (2019). *Infecciones intrahospitalarias en las unidades de cuidados intensivos de neonatología y pediatría del Hospital Manuel Nuñez Butron De Puno - 2018* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Altiplano]. <https://tesis.unap.edu.pe/handle/20.500.14082/10385>

Kenneth, R., & Ray, G. (2021). *Microbiología médica Sherris* (Quinta Edición, Vol. 5). Mc. Graw-Hill.

Larico, R. G. (2022). *Bacterias patógenas intrahospitalarias y su resistencia a antibióticos en teléfonos móviles del personal de salud del departamento de patología clínica y anatomía patológica del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón – Puno 2020* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Altiplano]. <https://repositorio.unap.edu.pe/handle/20.500.14082/18669>

Leiva, J., Fernández, M., Rubio, M., & Ruiz, A. (2018). Infecciones por *Salmonella* y *Yersinia*. *Dialnet*, 12(50), 2941-2951. <https://www.sciencedirect.com>

Leon, L. J. (2014). *Multirresistencia antimicrobiana de cepas de Escherichia coli productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) aislados en urocultivo del hospital regional «Manuel Nuñez Butron» Puno – 2012* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Altiplano]. <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/3274797>

Lizarzaburu, E. (2016). La gestión de la calidad en Perú: un estudio de la norma ISO 9001, sus beneficios y los principales cambios en la versión 2015. *Universidad & Empresa*, 18(30), 33-54. <https://doi.org/10.12804/rev.univ.empresa.30.2016.02>





- Llop, Valdes, & Zuazo. (2001). *Microbiología y Parasitología Médicas: Vol. II* (C. Aguirre, Ed.; Ciencias Medicas). Centro Nacional de Informacion de Ciencias Medicas.
- Loaiza, D. S. (2017). *Bacterias celulolíticas con características probióticas del intestino de termitas y su evaluación como potenciales degradadoras de totora (Schoenoplectus tatora)* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Altiplano]. <https://repositorio.unap.edu.pe/handle/20.500.14082/6165>
- Lopardo, H., & Garrahan, J. P. (2016). Cocos Gram positivos catalasa negativos. *Asociacion Argentina de Microbiologia*, 2(2), 1-295. <https://www.aam.org.ar/descarga-archivos/ParteII.pdf>
- Lopardo, H., Predari, S., & Vay, C. (2017). Bacterias de importancia clínica. *Asociacion Argentina de Microbiologia*, 1(2), 1-62. <https://ri.conicet.gov.ar/bitstream>
- Lorca, C. (2018). Proceso de limpieza y desinfección en un hospital de Tucumán. *Universidad Nacional de Tucuman*, 28, 1-10.
- Macias, A., Mera, L. A., Espinoza, M. R., Vite, F. A., Vallejo, P. A., Mendoza, L. M., Cedeño Dolores Mirella, Casanova, M. L., Medina, F. R., Piguave, J. M., Velez, M. F., Cevallos, B. A., Ubillus, S. P., Ipiiales, J. P., Arteaga, C. L., Escobar, C. A., Vera, M. C., & Teran, M. J. (2019). Microbiología y salud. *Medicina y Salud, 3ciencias*, 1-150. <https://dialnet.unirioja.es>
- Madigan, M., Martinko, J., Bender, K., Buckley, D., & Stahl, D. (2015). *Brock Biología de los Microorganismos* (14a ed.). Pearson Educacion.
- Mansilla, L. M. (2019). *Calidad microbiologica del aire y superficies en interiores del comedor de la Universidad Nacional Agraria De La Selva – Tingo Maria* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria de la Selva]. <https://repositorio.unas.edu.pe/items/57a11351-1f55-4403-a50e-43b75295ae08>
- Marín, E. (2018). *Fiebre tifoidea y factores de virulencia de Salmonella enterica serotipo Typhi*. <http://147.96.70.122/Web>



- Merck. (2005). *Microbiology Manual* (12th ed.). Laboquimia. [www.laboquimia.es](http://www.laboquimia.es)
- MINAM. (2017, junio 7). Aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua y establecen Disposiciones Complementarias. *Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM*, 10-19. <https://www.minam.gob.pe/disposiciones/decreto-supremo-n-004-2017-minam/>
- MINSA. (2007). Guia tecnica para el Analisis Microbiologico de Superficies en contacto con Alimentos y bebidas. En *Normas Legales* (pp. 1-14). N° 461-2007/MINSA. <https://www.sanipes.gob.pe/normativas>
- MINSA. (2019). Guia para la implementacion de vigilancia epidemiologica con posterioridad a desastres. *Ministerio de Salud*, 1-25.
- MINSALUD. (2018). Manual de medidas básicas para el control de infecciones en IPS. *Gobierno de Colombia*, 1-92.
- Montaluiza, M. (2018). Analisis de la microbiota del aire en terapia intensiva del Hospital de Especialidades Fuerzas Armadas [Tesis de pregrado, Universidad Central de Ecuador]. En *Universidad Central de Ecuador - Quito*. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/16822>
- Murray, P., Rosenthal, K., & Pfaller, M. (2021). *Microbiología Médica* (9na ed.). Elsevier.
- Naranjo, M. de L. (2015). *Análisis de superficies con identificación de cepas nativas de quirófano, cuartos de recuperación y baños, mediante la técnica de hisopado de superficies, antes y después del uso de desinfectantes en la clínica de unidades médicas de la ciudad de Quito* [Tesis de pregrado, Pontificia Universidad Católica del Ecuador]. <https://repositorio.puce.edu.ec/items/c4e04aa5-2e68-464f-86a8-5dce06a8f7ab>
- Nau, C., & Metzgar, M. (2020). *Microbiología LIR - Harvey* (5ta ed.). Wolters Kluwer.
- Noriega, C., Valera, E., Vargas, I., & Vela, J. M. (2020). Sepsis por *Escherichia coli* de inicio infrecuente en paciente con linfoma de células T y NK. *Scielo*, 20(4), 714-719. <https://doi.org/10.25176/rfmh.v20i4.3221>



- OMS. (2013). La estrategia de la OMS sobre higiene de las manos demuestra ser viable y sostenible en entornos asistenciales de todo el mundo. *UNICEF*, 1-88.
- OMS. (2020). Resistencia a los antibioticos: alcance del problema, prevencion y control. *Organizacion Mundial de la Salud*, 1-8.
- OPS. (2017). Programa de vigilancia de los serotipos y resistencia antimicrobiana de *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*. *Organizacion Panamericana de la Salud*, 1-177.
- Oxoid. (2024). *Thermo Fisher scientific*. Microbiology. <http://www.oxoid.com>
- Pasachova, J., Ramirez, S., & Muñoz, L. (2019). Staphylococcus aureus: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. *Scielo*, 17(32), 25-38. <http://www.scielo.org.co>
- Perez, G. M. (2016). *Evaluación microbiológica del aire y las superficies de las áreas de quirófanos del hospital del instituto ecuatoriano de seguridad social de Riobamba* [Tesis de pregrado, Escuela Superior Politecnica de Chiborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/5743>
- Perez, L. H., Zurita, I. M., Perez, N., Patiño, N., & Rafael, O. (2010). Evaluación microbiológica del aire y las superficies de las áreas de quirófanos del Hospital Del Instituto Ecuatoriano De Seguridad Social De Riobamba [Tesis de pregrado, Escuela Superior Politecnica de Chimborazo]. En *Rev. Cient. Cienc. Med.* (Vol. 13, Número 2). <http://dspace.esPOCH.edu.ec>
- Procop, G., Church, D., Hall, G., Janda, W., & Koneman, E. (2017). *Koneman Diagnostico microbiologico: Texto y atlas en color* (7ma ed.). [www.medicapanamericana.com](http://www.medicapanamericana.com)
- Quishpe, J. P. (2021). *Evaluación microbiológica de la calidad del aire en las áreas del Laboratorio de Microbiología del Hospital de Especialidades de las Fuerzas Armadas N°1*. [Tesis de pregrado, Universidad de las Fuerzas Armadas]. <https://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/handle/21000/26241>
- Quispe, E. R. (2020). *Factores de riesgo asociados a la resistencia de Escherichia coli productoras de beta-lactamasas de espectro extendido en pacientes con*



- infección del tracto urinario en el “Hospital Regional Manuel Núñez Butrón”* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Altiplano]. <http://tesis.unap.edu.pe/handle/20.500.14082/14140>
- Quizhpe, A., Encalada, L., Sacoto, A., Andrade, D., & Muñoz, G. (2014). Evaluación microbiológica del aire y las superficies de las áreas de quirófanos [Tesis de pregrado]. En *React. Latinoamericana*. Universidad Central de Ecuador.
- Ramos, A., Diaz, C., Escasi, C., Roman, E., Salas, J., Lucerna, A., & Fuentes, V. (2016). Recomendaciones para la monitorización de la calidad microbiológica del aire (bioseguridad ambiental) en zonas hospitalarias de riesgo. En *Bioseguridad Ambiental* (I, Vol. 1, pp. 1-35). Sociedad Andaluza de Medicina Preventiva y Salud Publica. <https://www.sociedadandaluzapreventiva.com>
- Ramos, F. E. (2017). *Infecciones intrahospitalarias, resistencia antimicrobiana y factores de riesgo en pacientes de la unidad de cuidados intensivos del Hospital Goyeneche III-1 de Arequipa* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Altiplano]. <http://tesis.unap.edu.pe/handle/20.500.14082/5362>
- Reyes, C., De León, J., Valdez, J., & Mendoza, L. (2020). Microorganismos más frecuentes aislados en la pipa de agua o hookah en cinco establecimientos nocturnos de Santo Domingo. *Rev. Utesiana de la Facultad Ciencias de la Salud*, 5(5), 48-58. <https://www.utesa.edu>
- Riedel, S., Hobden, J., Miller, S., Morse, S., Mietzner, T., Detrick, B., & Mejia, R. (2019). *Jawetz, Melnick y Adelberg microbiología médica* (28va ed.). McGraw-Hill.
- Rípodas, A., Fernández, D., & Macho, M. (2017). Investigación de Escherichia Coli productor de toxinas Shiga (STEC) en carnes y derivados cárnicos. *Sanidad Militar*, 73(3), 147-152. <https://doi.org/10.4321/S1887-85712017000300002>
- Rodriguez, C. (2013). Fichero Farmacologico. En *Editorial. McGraw Hill*. (1.<sup>a</sup> ed.). McGraw Hill.
- Rodríguez, E. A., Ruiz, A., Sánchez, L. M., García, N., & Jiménez, J. N. (2016). Diseminación de cepas Staphylococcus aureus sensible a meticilina (SASM) relacionadas genéticamente, pertenecientes al CC45, entre portadores nasales



- sanos de hogares infantiles de Medellín, Colombia. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 34(3), 159-165. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2015.04.008>
- Rodriguez, J. C. (2016). Evaluación aeromicrobiológica del depósito del Centro de Documentación del Museo Nacional de la Música de Cuba. *Rev. Ge-Conservacion*, 117-126. <https://ge-iic.com/ojs/index.php/revista/article/view/289>
- Romero, C. A., Castañeda, D. F., & Acosta, G. S. (2016a). Determinación de la calidad bacteriológica del aire en un laboratorio de microbiología en la Universidad Distrital Francisco José de Caldas en Bogotá, Colombia. *Universidad Distrital Francisco José de Caldas en Bogotá*, 57(1), 9.
- Romero, C. A., Castañeda, D. F., & Acosta, G. S. (2016b). Determinación de la calidad bacteriológica del aire en un laboratorio de microbiología en la Universidad Distrital Francisco José de Caldas en Bogotá, Colombia. *Scielo*, 13(26), 129-137. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v14n26/v14n26a12.pdf>
- Romero, R., & Romero, R. (2018). Microbiología y parasitología humana: Bases etiología de las enfermedades infecciosas y parasitarias. En *Editorial Medica Panamericana* (Medica Panamericana, Vol. 15). Biblioteca Nacional de Mexico.
- Rosero, M. (2020). *Monitoreo microbiológico del aire, superficies y personal del hospital del Día la Universidad Central del Ecuador* [Tesis de pregrado, Universidad Central de Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec>
- Rosero, M. P. (2020). *Monitoreo microbiológico del aire, superficies y personal del Hospital del Día de la Universidad Central del Ecuador*.
- Samaniego, G., & Choez, K. (2021). Staphylococcus aureus: factores asociados a su hipervirulencia y adhesión y formación de biopelículas. *Dialnet*, 6(9), 1826-1860. <https://doi.org/10.23857/pc.v6i9.3143>
- Sandoval, J. A. (2018). *Análisis microbiológico de los celulares de estudiantes de la facultad de ciencias químicas que trabajan en laboratorios donde se manipulan*



- muestras biológicas y microorganismos* [Tesis de pregrado, Universidad Central de Ecuador]. <https://www.dspace.uce.edu.ec>
- Silva, J. (2018). *Determinación de la calidad microbiológica en los ambientes de los laboratorios de La Universidad De Santander campus Cúcuta en el año 2018* [Tesis de pregrado, Universidad de Santander]. <https://repositorio.udes.edu.co/entities/publication/0401a7db-8580-43e6-a2f2-e8b8e49b6baa>
- Silva, P. S. (2019). *Análisis bacteriológico de billetes y monedas que circulan entre estudiantes que manejan muestras biológicas en laboratorios de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador* [Tesis de pregrado, Universidad Central del Ecuador]. <https://www.dspace.uce.edu.ec>
- Soria, C., Delgado, M., Serrano, M. L., López, I., Navarro, J. M., & Gutiérrez, J. (2021). Infecciones en pacientes colonizados con bacterias gramnegativas resistentes a carbapenémicos en una ciudad media española. *Revista Espanola de Quimioterapia*, 34(5), 450-458. <https://doi.org/10.37201/req/021.2021>
- Stearns, J., Surette, M., & Kaiser, J. (2019). *Microbiología médica* (Elsevier, Vol. 1). <https://www.berri.es>
- Tártara, S. (2013). Patógenos emergentes-tercera parte «Klebsiella pneumoniae productora de carbapenemasas (KPN-KPC)». *Revista renal*, 33(2), 103-109. [www.renal.org.ar](http://www.renal.org.ar)
- Tinoco, J. E., Carhuaz, M. R., Flores, D., & Alvarez, J. (2016). Determinación del crecimiento microbiológico por factores ambientales y su repercusión en la salud de la comunidad estudiantil en la biblioteca de la Universidad Peruana Unión. *Revista Ciencia, tecnología y desarrollo*, 2(1), 1-16. [https://revistas.upeu.edu.pe/index.php/ri\\_ctd/article/view/629](https://revistas.upeu.edu.pe/index.php/ri_ctd/article/view/629)
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2017). *Introducción a la Microbiología* (9na ed.). Editorial Medica Panamericana.
- Uchuya, H. R. (2015). *Presencia de Staphylococcus aureus resistente a meticilina en crianza porcina de traspatio del departamento de Tumbes* [Tesis de pregrado,



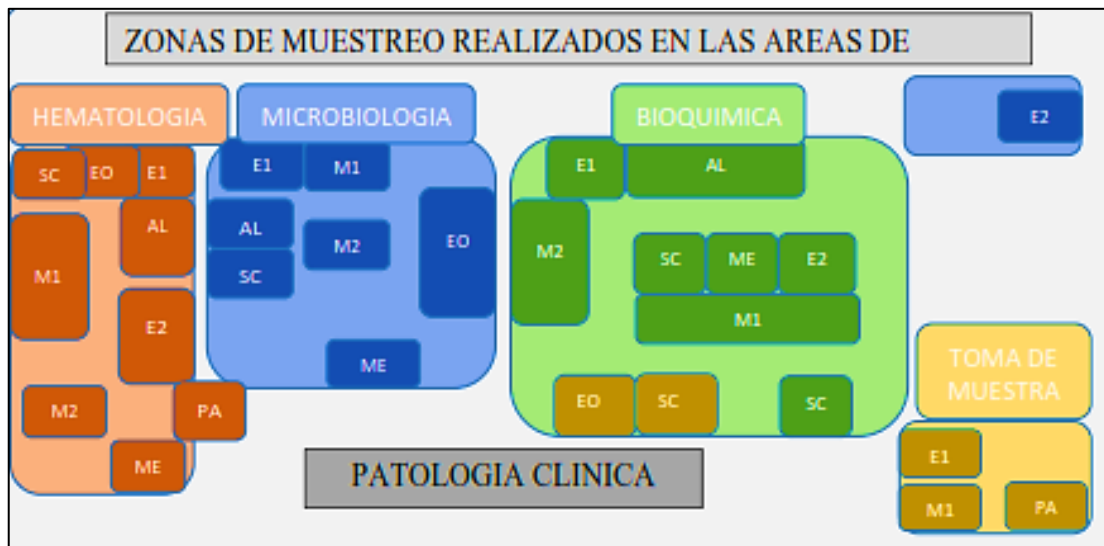
- Universidad Nacional Mayor de San Marcos].  
<https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/4611?show=full>
- Vargas, C. M. (2016). Infecciones nosocomiales. *Acta Medica Peruana*, 33(3), 175-182. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1728-59172016000300001](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172016000300001)
- Villalobos, M. (2019). *Susceptibilidad antimicrobiana en hemocultivos de pacientes internados en el Hospital Regional de Tarapoto, abril-julio 2019* [Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica, Universidad Nacional del Jaén]. <http://repositorio.unj.edu.pe/handle/UNJ/353>
- Weinstein, M. P. (2020). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (P. A. Wayne, Ed.; 30th ed., Vol. 30). Clinical and Laboratory Standards Institute. <https://www.nih.org.pk>
- Yupanqui, S. R. (2017). *prevalencia de Escherichia coli BLEE en urocultivos del Hospital Central FAP en el periodo enero-junio 2016* [Tesis de pregrado, Universidad Ricardo Palma]. <https://repositorio.urp.edu.pe/handle/20.500.14138/5410>
- Zapata, K. L. (2021). *Trabajo académico realizado en el laboratorio de microbiología del Hospital María Auxiliadora De Lima, sobre frecuencia y susceptibilidad de los principales agentes patógenos de urocultivos de enero a junio del 2019* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional San Agustín]. <https://repositorio.unsa.edu.pe/items/6236949a-61b2-4cd3-86e2-2199157b7aa3>
- Zendejas, G., Avalos, H., & Soto, M. (2014). Microbiología general de Staphylococcus aureus: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Rev. Biomedica*, 25(3), 129-143. <https://www.revistabiomedica.mx>



## ANEXOS

**Figura 10**

*Croquis del servicio de laboratorio clínico, zonas tomadas como puntos de muestreo para análisis bacteriológico de superficies*



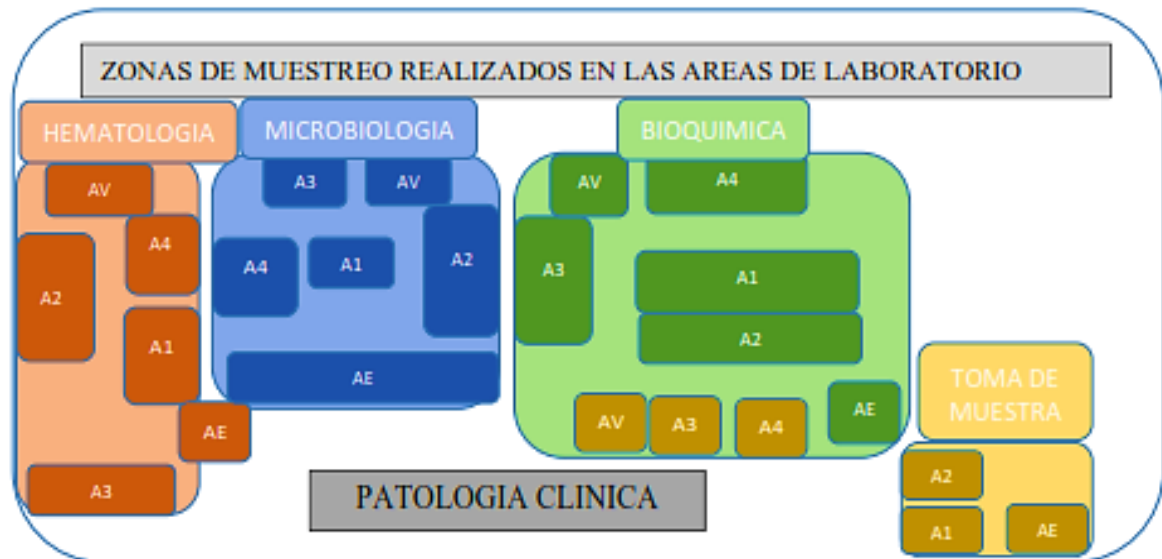
**Nota:** Abreviaturas, AL: Área de limpieza (lavatorio), E1: Equipo 01 (hematología: analizador hematológico Mindray 5800, microbiología: incubadora, bioquímica: centrifugadora, toma de muestra: maletín para extracción de sangre), E2: Equipo 02 (hematología: analizador automatizado, microbiología: autoclave, bioquímica: analizador automatizado BS-230), EO: Escritorio de oficina, M1: Mesa de trabajo 01, M2: Mesa de trabajo 02, ME: Manijas de equipos (hematología: coagulómetro, microbiología: refrigeradora de cultivos, bioquímica: equipo automatizado BS-230), PA: Puerta de acceso, SC: Superficie de computadora

**Fuente:** Elaboración propia



### Figura 11

*Croquis del servicio de laboratorio clínico, zonas tomadas como puntos de muestreo para análisis bacteriológico de ambientes*



**Nota:** Abreviaturas, AE= Área de entrada; AV= Área de ventilación; A1= Área I (hematología: cerca al analizador automatizado, microbiología: mesa central, bioquímica: mesa de trabajo principal: toma de muestra: mesa de toma de muestra); A2= Área II (hematología: mesa de computadora, microbiología: mesa de urología y parasitología, bioquímica: mesa de computadora, toma de muestra: mesa de personal que toma muestra); A3= Área III (hematología: mesa de trabajo del coagulómetro, microbiología: área de almacenamiento de placas Petri, bioquímica: mesa para reacciones inmunológicas: toma de muestra: mesa de ventanilla); A4= Área IV (hematología: área de lavado, microbiología: mesa de computadora, bioquímica: mesa de limpieza, toma de muestra: mesa de computadora)

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 14**

*Recuento total de mesófilos aerobios en superficies inertes y equipos en pre-desinfección, del servicio de laboratorio clínico del Hospital*

*Regional “Manuel Niñez Butron II-2”, Puno, 2022*

Superficie	Bioquímica			Hematología			Microbiología			Toma de muestras		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Muestreo	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Mesa de trabajo I	1.2*10	0.4*10	0.6*10	0.7*10	0.1*10	0.2*10	0.4*10	0.6*10	0.5*10	1.2*10	2.4*10	1.6*10
Mesa de trabajo II	1.1*10 <sup>2</sup>	9.3*10	8.9*10	0.7*10	0.3*10	0.3*10	1.2*10	1.9*10	0.8*10	--	--	--
Escritorio de oficina	4.0*10	7.0*10	7.0*10	0.6*10	0.8*10	0.7*10	0.9*10	0.2*10	0.3*10	1.5*10 <sup>2</sup>	8.4*10	7.7*10
Mesa y/o Área de limpieza	5.7*10 <sup>2</sup>	4.9*10 <sup>2</sup>	5.0*10 <sup>2</sup>	2.2*10	2.1*10	1.7*10	2.0*10	1.8*10	1.2*10	--	--	--
Puertas de acceso	--	--	--	0.3*10	0.1*10	0.1*10	--	--	--	0.6*10	0.4*10	0.6*10
UFC/cm <sup>2</sup>	1.83*10 <sup>2</sup>	1.64*10 <sup>2</sup> ±2.2*1	1.66*10 <sup>2</sup>	0.9*10	0.68*10±0.84*1	0.62*10	1.12*10	1.12*10	0.7*10	5.6*10	3.7*10±	3.3*10
	±	0 <sup>2</sup>	± 2.2*10 <sup>2</sup>	±	0	±	±	±	±	±	4.1*10	±
	2.6*10 <sup>2</sup>		0.7*10	0.66*10	0.67*10	0.85*10	0.39*1	8.1*10	0			3.8*10
Interpretación	I	I	I	O	O	O	O	O	O	I	T	T
n												
Superficie equipos I	2.1*10 <sup>2</sup>	1.4*10 <sup>2</sup>	1.2*10 <sup>2</sup>	2.2*10	2.5*10	2.5*10	4.1*10	7.3*10	6.4*10	1.0*10 <sup>2</sup>	1.3*10 <sup>2</sup>	1.3*10 <sup>2</sup>

Superficie	Bioquímica			Hematología			Microbiología			Toma de muestras			
Superficie equipos II	1.7*10 <sup>2</sup>	6.9*10	5.8*10	1.6*10	1.1*10	1.1*10	1.1*10	3.8*10	3.1*10	2.0*10	--	--	--
Superficie computadora	0.5*10	0.2*10	0.3*10	0.4*10	0.2*10	0.3*10	1.2*10	0.7*10	0.2*10	0.2*10	7.3*10	7.1*10	6.0*10
Manija de equipos	1.0*10 <sup>2</sup>	9.1*10	5.5*10	1.4*10	1.1*10	1.3*10	2.8*10	3.1*10	2.0*10	2.0*10	--	--	--
UFC/cm <sup>2</sup>	1.23*10 <sup>2</sup>	7.7*10±	5.9*10±	1.4*10	1.2*10±	1.3*10±	2.9*10±	3.5*10±	2.3*10	2.3*10	8.6*10	1.0*10 <sup>2</sup>	9.5*10
±		5.7*10	4.7*10	±	0.9*10	0.9*10	1.3*10	2.7*10	±	±	±	±	±
9.1*10			0.7*10						2.7*10	1.9*10	4.1*10	4.9*10	
Interpretación	I	I	I	O	O	O	T	T	O	T	I	I	I

**Nota:** I= intolerable, O= optimo, T= tolerable, el valor resultante es el promedio ± la desviación estándar, la interpretación fue tomada en cuenta de Rosero (2020), extraído de referencia del Comité de Salud Pública Americano

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 15**

*Recuento total de mesófilos aerobios en superficies inertes y equipos en post-desinfección del servicio de laboratorio clínico del Hospital*

*Regional “Manuel Núñez Butron II-2” Puno, 2022*

Área	Bioquímica			Hematología			Microbiología			Toma de muestras		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Muestreo	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Mesa de trabajo I	0.5*10	0.2*10	0.3*10	0.5*10	0.4*10	0.2*10	0.2*10	0.3*10	0.2*10	0.6*10	0.4*10	0.0
Mesa de trabajo II	4.9*10	3.3*10	3.5*10	0.3*10	0.0	0.0	0.9*10	1.2*10	0.5*10	--	--	--
Escritorio de oficina	3.7*10	2.5*10	2.9*10	0.5*10	0.8*10	0.5*10	0.9*10	0.4*10	0.3*10	1.1*10 <sup>2</sup>	9.2*10	9.2*10
Mesa y/o Área de limpieza	1.5*10 <sup>2</sup>	1.7*10 <sup>2</sup>	1.3*10 <sup>2</sup>	0.6*10	0.5*10	0.0	1.1*10	3.7*10	3.5*10	--	--	--
Puertas de acceso	--	--	--	0.3*10	0.1*10	0.1*10	--	--	--	0.8*10	0.5*10	0.6*10
UFC/cm <sup>3</sup>	6.0*10±	5.7*10±	4.9*10±	0.4*10±	0.3*10±	0.1*10±	7.7*10±	1.4*10±	1.1*10±	5.9*10±	3.3*10±	3.2*10±
	6.2*10	7.6*10	5.5*10	0.1*10	0.3*10	0.2*10	3.9*10	1.5*10	1.5*10	5.1*10	5.0*10	5.1*10
Resultado	I	I	T	O	O	O	I	O	O	I	T	T
Superficie de equipos I	1.7*10 <sup>2</sup>	1.4*10 <sup>2</sup>	1.2*10 <sup>2</sup>	2.3*10	3.1*10	2.7*10	2.5*10	1.9*10	2.4*10	0.9*10	1.3*10	1.7*10

Área	Bioquímica			Hematología			Microbiología			Toma de muestras		
Superficie de equipos II	1.4*10 <sup>2</sup>	7.1*10	5.8*10	0.9*10	1.3*10	1.0*10	3.0*10	2.1*10	1.6*10	--	--	--
Superficie computador	0.2*10	0.1*10	0.1*10	0.6*10	0.2*10	0.3*10	0.8*10	0.9*10	0.5*10	6.7*10	7.3*10	7.0*10
Mamija de equipos	1.0*10 <sup>2</sup>	8.7*10	5.0*10	1.2*10	1.3*10	1.5*10	2.1*10	2.4*10	1.7*10	--	--	--
UFC/cm <sup>3</sup>	1.0*10 <sup>2</sup> ±	7.4*10±	5.7*10±	1.2*10±	1.4*10±	1.3*10±	2.1*10±	1.8*10±	1.5*10±	3.8*10±	4.3*10±	4.3*10±
	7.3*10	5.7*10	4.8*10	7.4*10	1.2*10	1.0*10	0.9*10	0.6*10	0.7*10	4.1*10	4.2*10	3.7*10
Resultado	I	I	I	O	O	O	O	O	O	T	T	T

**Nota:** I= intolerable, O= óptimo, T= tolerable, el valor resultante es el promedio ± la desviación estándar, la interpretación fue tomada en cuenta de Rosero (2020).  
Extraído de referencia del Comité de Salud Pública Americano

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 16**

*Recuento total de mesófilos en ambientes durante el turno diurno del servicio de laboratorio clínico del Hospital Regional “Manuel Nuñez*

*Butron II-2” Puno, 2022*

Área	Bioquímica			Hematología			Microbiología			Toma de muestras			
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
Área de entrada	1.44*10	1.17*10	1.57*10	2.61*10	2.61*10	1.30*10	1.30*10	1.57*10	1.04*10	1.17*10	4.58*10 <sup>2</sup>	3.01*10 <sup>2</sup>	3.79*10 <sup>2</sup>
Área de ventilación	1.30*10	2.61*10	1.30*10	0.0	0.0	1.30*10	1.30*10	0.0	2.61*10	2.61*10	2.35*10 <sup>2</sup>	2.22*10 <sup>2</sup>	3.01*10 <sup>2</sup>
Área I	3.92*10	2.61*10	6.54*10	0.0	0.0	1.30*10	1.30*10	1.30*10	3.92*10	6.54*10	6.28*10 <sup>2</sup>	5.76*10 <sup>2</sup>	4.84*10 <sup>2</sup>
Área II	9.16*10	6.54*10	7.85*10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	9.16*10	1.04*10	3.92*10
Área III	1.30*10	2.61*10	2.61*10	3.92*10	1.30*10	0.0	0.0	2.61*10	2.61*10	1.30*10	3.92*10	5.23*10	1.30*10
Área IV	2.61*10	3.92*10	2.61*10	0.0	0.0	0.0	0.0	3.92*10	3.92*10	6.54*10	3.92*10	1.30*10	1.30*10
UFC/m <sup>3</sup>	3.28*10 <sup>±</sup>	3.2*10 <sup>±</sup>	3.74*10 <sup>±</sup>	1.08*10 <sup>±</sup>	6.5 <sup>±</sup>	6.5 <sup>±</sup>	6.5 <sup>±</sup>	1.56*10 <sup>±</sup>	2.35*10 <sup>±</sup>	3.02*10 <sup>±</sup>	2.48*10 <sup>2</sup> ±	1.95*10 <sup>2</sup> ±	2.04*10 <sup>2</sup> ±
	3.05*10	1.83*10 <sup>2</sup>	2.75*10	1.73*10	1.09*10	7.1	7.1	1.52*10	1.56*10	2.84*10	2.45*10 <sup>2</sup>	2.21*10 <sup>2</sup>	2.09*10 <sup>2</sup>
Concentración	MB	MB	MB	MB	MB	MB	MB	MB	MB	MB	I	I	I

**Nota:** MB= muy baja, I= intermedio, el valor resultante es el promedio ± la desviación estándar, la interpretación fue tomada en cuenta a Tinoco et al. (2016)

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 17**

*Recuento total de mesófilos en ambientes al finalizar el turno diurno del servicio de laboratorio clínico del Hospital Regional “Manuel*

*Núñez Butron II-2” Puno, 2022*

Superficies	Bioquímica			Hematología			Microbiología			Toma de muestras		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Muestreo	5.23*10	3.92*10	0.0	5.23*10	3.92*10	5.23*10	3.92*10	2.61*10	0.0	1.92*10 <sup>2</sup>	1.57*10 <sup>2</sup>	2.48*10 <sup>2</sup>
Área de entrada												
Área de ventilación	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.30*10	0.0	0.0	2.61*10	2.88*10 <sup>2</sup>	2.35*10 <sup>2</sup>	2.09*10 <sup>2</sup>
Área I	7.85*10	3.92*10	5.23*10	5.23*10	3.92*10	2.61*10	2.61*10	2.61*10	0.0	0.0	2.61*10	1.30*10
Área II	1.17*10 <sup>2</sup>	1.44*10 <sup>2</sup>	1.30*10 <sup>2</sup>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Área III	0.0	2.61*10	0.0	7.85*10	9.16*10	6.54*10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Área IV	0.0	0	1.30*10	0.0	0.0	0.0	5.23*10	2.61*10	0.0	0.0	0.0	1.30*10
UFC/m <sup>3</sup>	2.37*10±	1.98*10±	3.25*10±	3.05*10±	2.83*10±	2.61*10±	1.96*10±	1.30*10±	6.5±	8.00*10±	6.96*10±	8.05*10±
	3.36*10	1.79*10	5.18*10	3.47*10	3.64*10	2.74*10	2.30*10	1.42*10	1.09*10	1.25*10 <sup>2</sup>	1.01*10 <sup>2</sup>	1.15*10 <sup>2</sup>
Resultado	MB	MB	MB	MB	MB	MB	MB	MB	MB	B	B	B

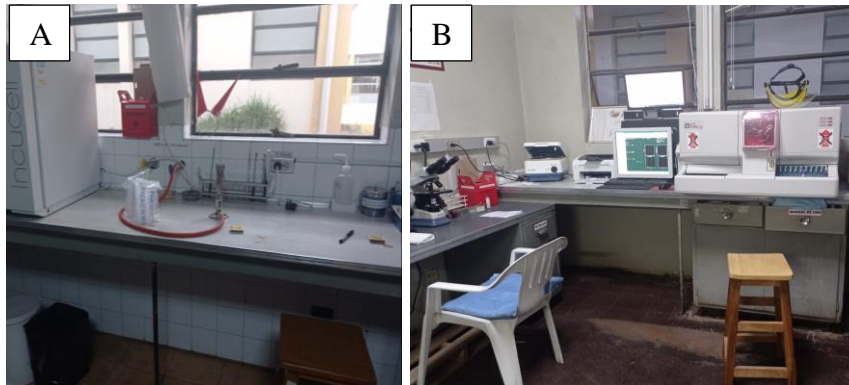
**Nota:** MB= muy baja, B= baja, el valor resultante es el promedio ± la desviación estándar, la interpretación fue tomada en cuenta de Tinoco et al. (2016)

**Fuente:** Elaboración propia

## Figura 12

*Ambientes de laboratorio clínico del servicio de patología clínica del Hospital Regional*

*Manuel Núñez Butrón II-2*



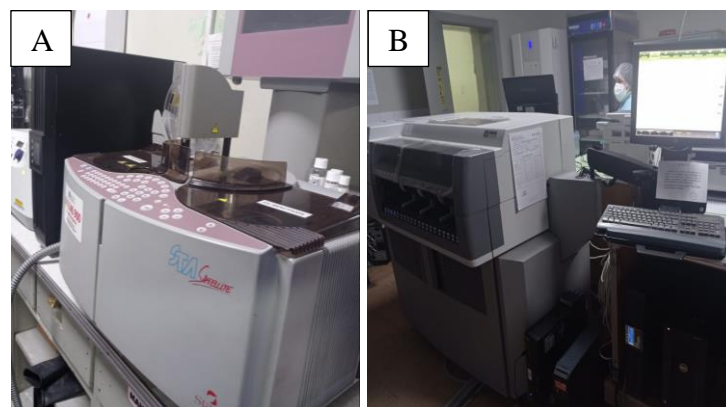
**Nota:** A. Ambiente de microbiología de laboratorio clínico, B. Ambiente de microbiología de laboratorio clínico

Fuente: Banco de imágenes

## Figura 13

*Superficies y equipos de laboratorio clínico del servicio de patología clínica del Hospital*

*Regional Manuel Núñez Butrón II-2*



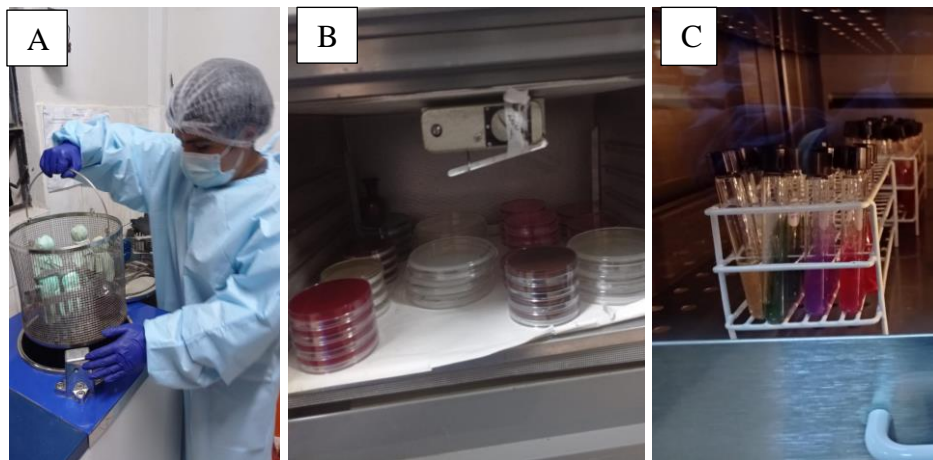
**Nota:** A. Equipo semi automático de hematología, B. Equipo semiautomático de bioquímica

**Fuente:** Banco de imágenes



## Figura 14

*Preparación de medios de cultivo en material de vidrio y autoclavado*

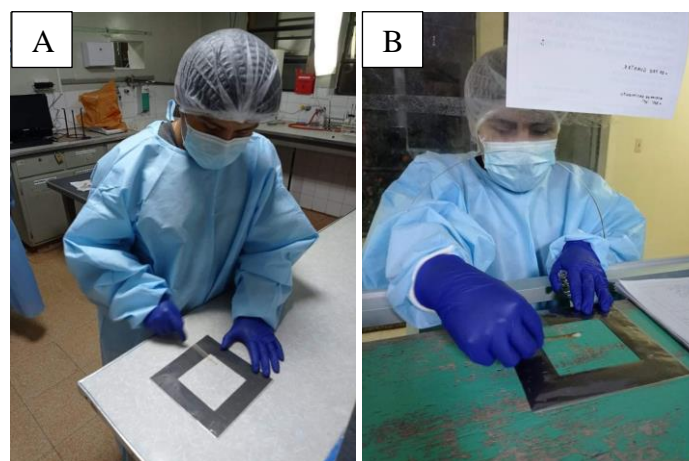


**Nota:** A. medios de cultivo en matraces para esterilizar, B. medios de cultivo en control de calidad durante 24h, C. Pruebas bioquímicas en control de calidad durante 24h

**Fuente:** Banco de imágenes

## Figura 15

*Toma de muestra en superficies inertes del servicio de laboratorio clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2”*

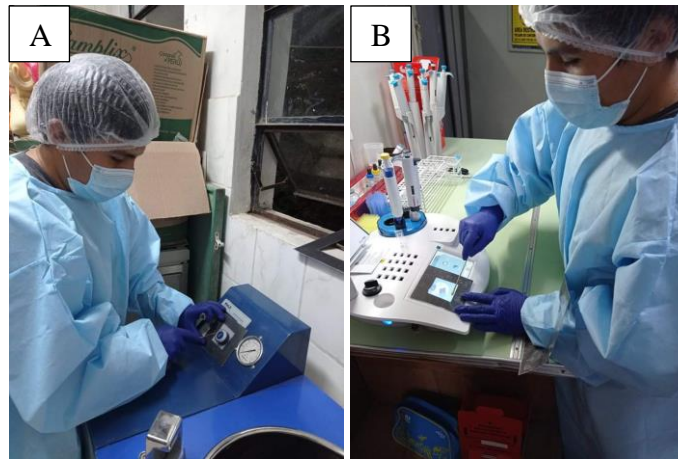


**Nota:** A. toma de muestra de superficie realizada en el área de microbiología, B. toma de muestra de superficie tomada del área de toma de muestra

**Fuente:** Banco de imágenes

### Figura 16

*Toma de muestra en superficies de equipos del servicio de laboratorio clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2”*

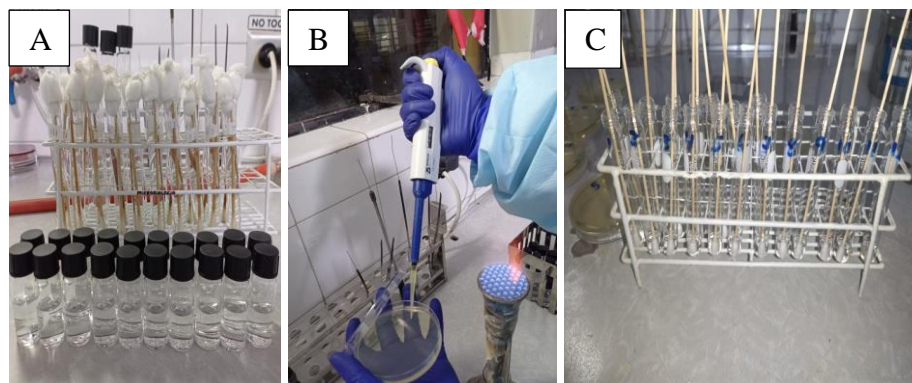


**Nota:** Toma de muestra de superficie, tomada de la autoclave de microbiología, B. Toma de muestra de superficie, tomada del coagulómetro de hematología

**Fuente:** Banco de imágenes

### Figura 17

*Inoculación de muestreo de superficies y equipos, en placas Petri con agar TSA*

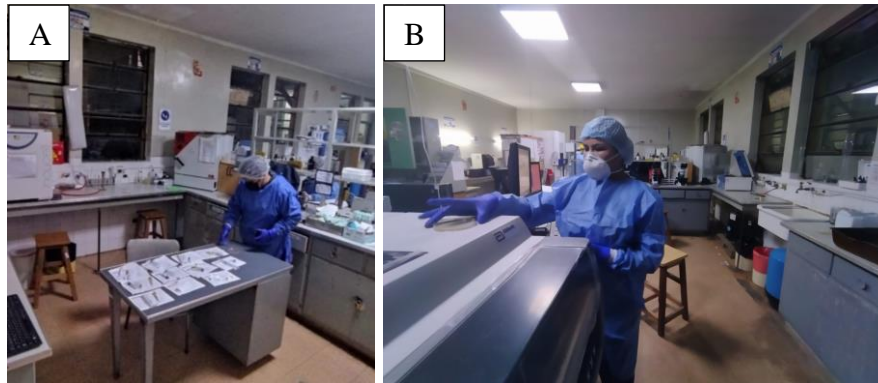


**Nota:** A. Tubos de ensayo puestos con suero fisiológico, B. Inoculación de muestreo de superficies en agar TSA, C. Tubos de ensayo con agua peptonada e hisopos sometidas a muestreo de superficies

**Fuente:** Banco de imágenes

### Figura 18

*Muestreo mediante el método de sedimentación en placa de ambientes de laboratorio clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butron II-2”*

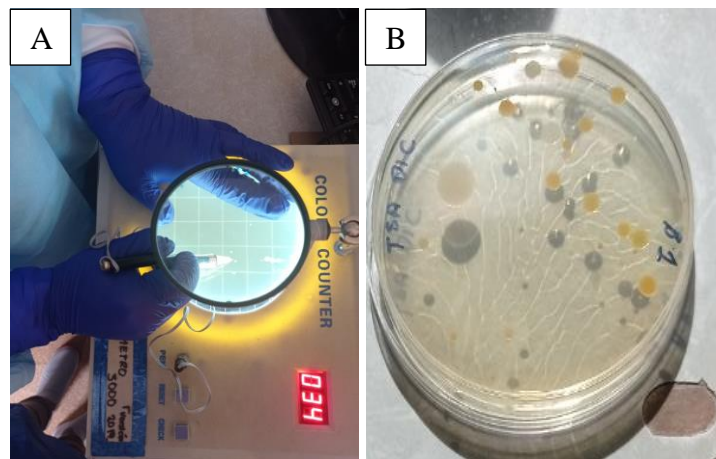


**Nota:** A. Muestreo por sedimentación en placa en el ambiente de microbiología, B. Muestreo por sedimentación en placa en el ambiente de bioquímica

**Fuente:** Banco de imágenes

### Figura 19

*Recuento de colonias halladas luego de la incubación*

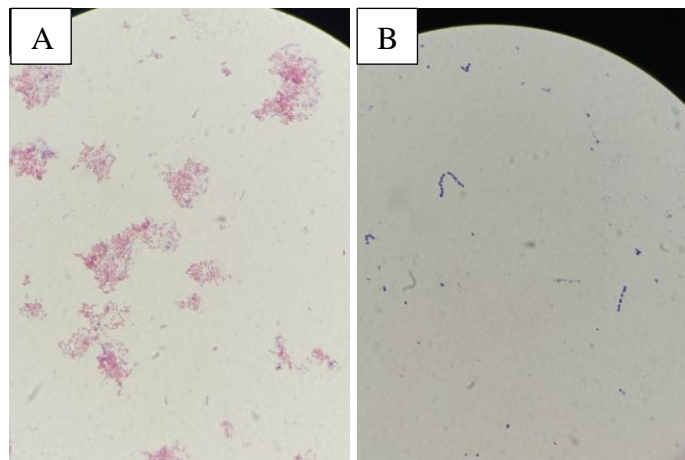


**Nota:** A. Recuento de bacterias aisladas en ambientes de laboratorio clínico en contador de colonias, B. Bacterias aisladas en medio de cultivo TSA mediante sedimentación en placa

**Fuente:** Banco de imágenes

## Figura 20

*Bacterias Gram positivas y negativas aisladas y vistas en microscopia a 100x*

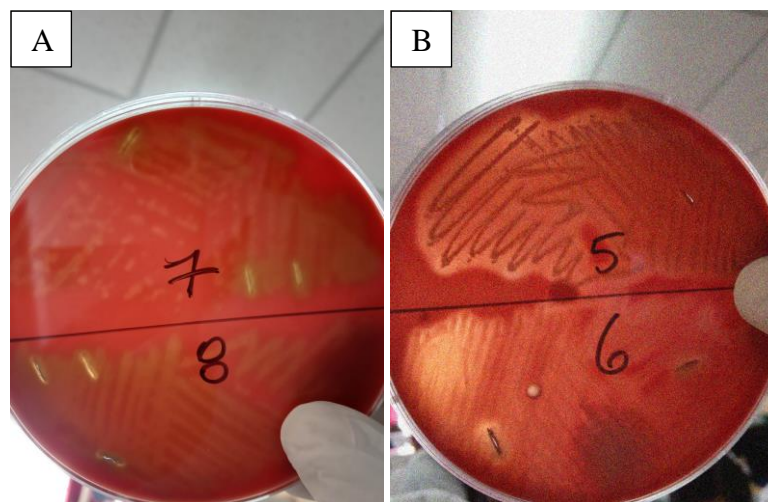


**Nota:** A. Bacterias Gram negativas vistas en microscopio a 100x, B. Bacterias Gram positivas vistas en microscopio a 100x

**Fuente:** Banco de imágenes

## Figura 21

*Crecimiento bacteriano en Agar Sangre*



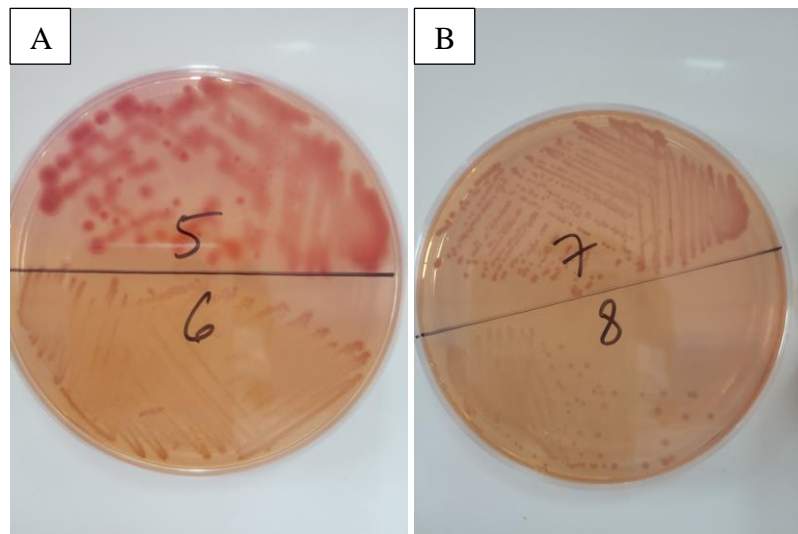
**Nota:** A. Crecimiento bacteriano de bacterias alfa hemolíticas, B. Crecimiento bacteriano beta hemolítico

**Fuente:** Banco de imágenes



## Figura 22

### *Crecimiento bacteriano en Agar MacConkey*

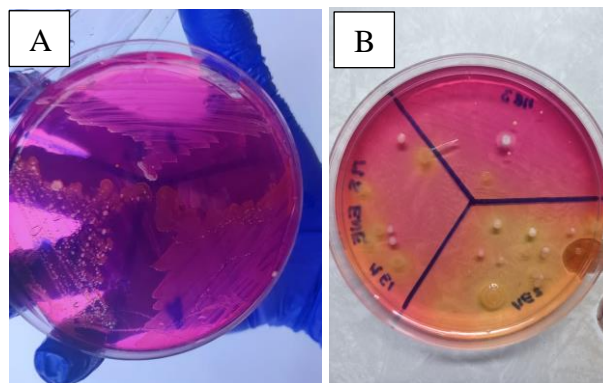


**Nota:** A. Crecimiento bacteriano de bacterias Gram negativas, B. Crecimiento de bacterias Gram negativas

**Fuente:** Banco de imágenes

## Figura 23

### *Crecimiento bacteriano en Agar manitol salado*

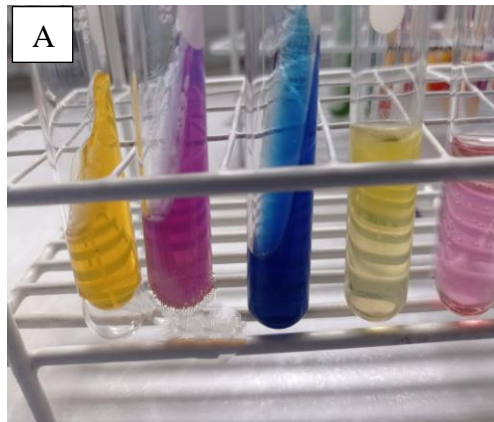


**Nota:** A. Crecimiento bacteriano de bacterias Gram positivas, B. Crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* característico por su coloración amarilla en agar manitol salado

**Fuente:** Banco de imágenes

## Figura 24

### *Pruebas bioquímicas para Gram negativos (enterobacterias)*



**Nota:** A. Imagen de batería bioquímica donde se ve los medios TSI= A/A (+) (-), LIA= K/K, Citrato= positivo, SIM= Hidrógeno sulfurado (-), indol (-), movilidad (+ o v), resultados característicos de las cepas bacterianas del género *Serratia*

**Fuente:** Banco de imágenes



01-2024

## CONSTANCIA

La que suscribe es Directora de la unidad de investigación de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno

### HACE CONSTAR:

Que, el Sr. José Carlos Gonzalo Aliaga, identificado con DNI N° 70340897, ha realizado la ejecución del proyecto de tesis titulado: CALIDAD BACTERIOLÓGICA DE SUPERFICIES, EQUIPOS, AIRE Y RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE PATOGENOS GRAM POSITIVOS Y NEGATIVOS DEL SERVICIO DE LABORATORIO CLÍNICO DEL HOSPITAL REGIONAL MANUEL NUÑEZ BUTRÓN II-2, PUNO – 2021, durante tres meses a partir del 01 de diciembre del 2021 al 28 de febrero del 2022. En referencia a la Constancia V°B° N°0434560 emitida por el Director del Hospital Regional "MNB"-Puno.

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que estime por conveniente.

Puno, 09 de abril del 2024.



  
Dra. *Yolanda Cecilia Montes Alcos*  
DIRECTORA  
Unidad de Investigación  
FCBB - UNA



## AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo José Carlos Gonzalo Aliaga Hanco,  
identificado con DNI 70340697 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

De Biología

informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:

"CALIDAD BACTERIOLOGICA DE SUPERFICIES, EQUIPOS, AIRE Y RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE PATOGENOS GRAM POSITIVOS Y NEGATIVOS DEL SERVICIO DE LABORATORIO CLINICO DEL HOSPITAL REGIONAL "MANUEL NUÑEZ BUTRON II-2", PUNO - 2021"

para la obtención de  Grado,  Título Profesional o  Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los "Contenidos") que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno, 22 de mayo del 2024

FIRMA (obligatoria)



Huella





## DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo José Carlos Gonzalo Aliaga Hanco,  
identificado con DNI 70340697 en mi condición de egresado de:

**Escuela Profesional**,  **Programa de Segunda Especialidad**,  **Programa de Maestría o Doctorado**

De Biología

informo que he elaborado el/la  **Tesis** o  **Trabajo de Investigación** denominada:

“CALIDAD BACTERIOLOGICA DE SUPERFICIES, EQUIPOS, AIRE Y RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE PATOGENOS GRAM POSITIVOS Y NEGATIVOS DEL SERVICIO DE LABORATORIO CLINICO DEL HOSPITAL REGIONAL “MANUEL NUÑEZ BUTRON II-2”, PUNO – 2021”

Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y no existe plagio/copia de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno, 22 de mayo del 2024

FIRMA (obligatoria)



Huella