

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL
DEPARTAMENTO DE MEDICINA
CARRERA DE LICENCIATURA EN LABORATORIO CLÍNICO**



**TRABAJO DE GRADO:
AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS EN EL AMBIENTE Y
SUPERFICIES DE LAS SALAS DE OPERACIONES DEL HOSPITAL
NACIONAL DE SANTA ROSA DE LIMA, DEPARTAMENTO DE LA UNIÓN
EN EL PERÍODO DE JUNIO A JULIO DE 2015**

**PRESENTADO POR:
ANDRADE ALVARENGA, GABRIELA ESMERALDA
ARIAS CASTILLO, ROSA ELENA
VENTURA SANCHEZ, INGRIS ARMIDA**

**PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE:
LICENCIADA EN LABORATORIO CLÍNICO**

**DOCENTE DIRECTOR:
MAESTRA KAREN RUTH AYALA DE ALFARO**

CIUDAD UNIVERSITARIA ORIENTAL, OCTUBRE DE 2015

SAN MIGUEL

EL SALVADOR

CENTRO AMÉRICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
AUTORIDADES

INGENIERO MARIO ROBERTO NIETO LOVO
RECTOR

MAESTRA ANA MARIA GLOWER DE ALVARADO
VICE-RECTORA ACADÉMICA

MAESTRO OSCAR NOÉ NAVARRETE
VICE-RECTOR ADMINISTRATIVO

DOCTORA ANA LETICIA ZA VALETA DE AMAYA
SECRETARIA GENERAL

LICENCIADO FRANCISCO CRUZ LETONA
FISCAL GENERAL

FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL
AUTORIDADES

MAESTRO CRISTÓBAL HERNÁN RÍOS BENÍTEZ
DECANO

LICENCIADO CARLOS ALEXANDER DÍAZ
VICE-DECANO

MAESTRO JORGE ALBERTO ORTÉZ HERNÁNDEZ
SECRETARIO

MAESTRA ELBA MARGARITA BERRÍOS CASTILLO
DIRECTORA GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACIÓN

DEPARTAMENTO DE MEDICINA
AUTORIDADES

DOCTOR FRANCISCO ANTONIO GUEVARA GARAY
JEFE DEL DEPARTAMENTO

LICENCIADA AURORA GUADALUPE GUTIÉRREZ DE MUÑOZ
COORDINADORA DE LA CARRERA DE LICENCIATURA EN LABORATORIO
CLÍNICO

MAESTRA OLGA YANETT GIRÓN DE VÁSQUEZ
COORDINADORA DE PROCESOS DE GRADUACIÓN DE LA CARRERA DE
LICENCIATURA EN LABORATORIO CLÍNICO

ASESORES

MAESTRA KAREN RUTH AYALA DE ALFARO
DOCENTE DIRECTOR

MAESTRA OLGA YANETT GIRÓN DE VÁSQUEZ
ASESORA DE METODOLOGÍA

LICENCIADO SIMÓN MARTÍNEZ DÍAZ
ASESOR DE ESTADÍSTICA

TRIBUNAL CALIFICADOR

MAESTRA KAREN RUTH AYALA DE ALFARO

DOCENTE DIRECTOR

LICENCIADA AURORA GUADALUPE GUTIÉRREZ DE MUÑOZ

COORDINADORA DE LA CARRERA DE LICENCIATURA EN LABORATORIO
CLÍNICO

LICENCIADA SONIA IBETTE LEÓN DE MENDOZA

DOCENTE DE LA CARRERA DE LICENCIATURA EN LABORATORIO
CLÍNICO

AGRADECIMIENTOS

A DIOS:

Quien nos dio la fe, la fortaleza, sabiduría, esperanza y la perseverancia para culminar este proyecto.

A LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR:

Por ser una institución formadora de profesionales y darnos la oportunidad de realizar nuestros estudios superiores.

A LOS DOCENTES DE LA CARRERA: con respeto, dedicación y disponibilidad.

AL PERSONAL DEL HOSPITAL NACIONAL DE SANTA ROSA DE LIMA:

Por brindarnos la oportunidad de ejecutar la investigación.

MAESTRA KAREN RUTH AYALA DE ALFARO

Por el aporte de sus conocimientos, orientaciones, manera de trabajar, persistencias, paciencia, motivación y dedicación fueron fundamentales para nuestra investigación.

MUY ESPECIALMENTE A:

Licenciada Irma Lovos por brindarnos sus conocimientos y valioso tiempo cada vez que lo necesitábamos.

Maestra Olga Yanett Girón de Vásquez por brindarnos su constante apoyo y conocimientos durante el transcurso de nuestra investigación.

GABRIELA, ROSA E INGRIS

DEDICATORIA

A Dios: por bendecirme, por darme sabiduría y esperanza para llegar hasta donde he llegado, porque hizo realidad este sueño anhelado.

A mis padres: Juan Andrade y Esmeralda Alvarenga de Andrade. Gracias por sus enseñanzas, por su apoyo incondicional, por enseñarme a luchar con razón, por su ejemplo, amor y confianza. Ustedes fueron testigos del camino andado para llegar hasta aquí, porque se que mi sueño era el suyo también; sepan que su impulso y estímulo me ayudó a lograrlo. El logro hoy alcanzado es también de ustedes.

A mi abuela: Ana Montiel por su cariño incondicional, apoyo, sus oraciones y por estar presente en cada uno de mis logros porque este sueño es uno de sus sueños.

A mi hermana: Karla Cecilia por su cariño, paciencia y apoyo en los momentos más difíciles.

A mis tíos/as, primos/as: Por su cariño y apoyo en todo momento.

GABRIELA ESMERALDA ANDRADE ALVARENGA

DEDICATORIA

A DIOS Todopoderoso por colmarme de bendiciones y darme la actitud, la sabiduría y la fuerza necesaria para afrontar cada reto hacia la culminación de mi carrera.

Mira que te mando que te esfuerces seas valiente; no temas ni desmayes porque Jehová tu DIOS está contigo en donde quieras que vayas. “Josué 1: 9”

A mis padres: Gaspar Arias y María Castillo de Arias, por apoyarme en todo momento y luchar a mi lado; por mostrarme el verdadero valor del trabajo y la perseverancia para lograr mis objetivos.

A mis hermanos: Esmeralda, Luis y Alexander que incondicionalmente me han dado su apoyo, su motivación y cariño en todo momento de vida.

A mi familia en general: por haber estado a mi lado motivándome e impulsándome a seguir adelante.

A mis amigos: que están en todo momento brindando su afecto, su comprensión y con quienes comparto este logro.

A los Docentes: que han compartido su conocimiento y su amistad para formarnos como profesionales.

ROSA ELENA ARIAS CASTILLO

DEDICATORIA

A Dios: por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida y darme salud , sabiduría y entendimiento, voluntad, esmero y perseverancia para lograr esta meta.

A mis padres: Pedro Ventura Fermán y Cecilia del Carmen Sánchez de Ventura por infundir en mí, el deseo de superación, resaltando su apoyo, por ser siempre incondicionales ayudándome en todo momento, por sus consejos, amor, ayuda moral y económica durante toda la carrera.

A mis abuelos paternos y maternos: Gracias por sus enseñanzas, oraciones y por sus consejos, este reto universitario no lo hubiera logrado sin su ayuda.

A mi hijo: Por ser mi fuente de inspiración y superación en la vida.

A mi hermano: Elmer Geovany Ventura Sánchez, por su apoyo moral y ayudarme para que este proyecto fuera posible.

A mi prima: María Lourdes Guzmán Sánchez, por apoyarme en todos los momentos.

A mis tíos: Por siempre llevarme en sus oraciones y por motivarme a seguir adelante a luchar cada día más.

INGRIS ARMIDA VENTURA SANCHEZ

ÍNDICE

CONTENIDO	PÁG.
RESUMEN.....	xvii
INTRODUCCIÓN.....	xviii
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	20
2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	26
3. MARCO TEÓRICO.....	27
4. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN.....	52
5. DISEÑO METODOLÓGICO.....	58
6. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS.....	66
7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	98
8. CONCLUSIONES.....	100
9. RECOMENDACIONES.....	102
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	103

LISTA DE TABLAS

CONTENIDO	PÁG.
Tabla 1. Distribución de la cantidad de muestras tomadas de las superficies de las salas de operaciones según ubicación, momento de muestreo y área de trabajo.....	66
Tabla 2. Bacterias aisladas en las diferentes tomas de muestras en las superficies en la sala de operaciones 1, según área de muestreo.....	69
Tabla 3. Bacterias aisladas en las diferentes tomas de muestras en las superficies en la sala de operaciones 2, según el área de muestreo.....	72
Tabla 4. Comparación de los resultados del aislamiento de bacterias en las superficies de las salas de operaciones 1 y 2, según el área de muestreo.....	75
Tabla 5. Bacterias aisladas en las muestras de superficies: Área física de la sala de operaciones 1, antes y después de la desinfección.....	77
Tabla 6. Bacterias aisladas en las muestras de superficies: Utensilios de la sala de operaciones 1, antes y después de la desinfección.....	79
Tabla 7. Bacterias aisladas en las muestras de superficies: Recursos utilizados por el personal en la sala de operaciones 1, antes y después de la desinfección	80

Tabla 8. Bacterias aisladas en las muestras de superficies: Recursos utilizados para el paciente en la sala de operaciones 1, antes y después de la desinfección.....	81
Tabla 9. Bacterias aisladas en las muestras de superficies: Área física de la sala de operaciones 2, antes y después de la desinfección.....	82
Tabla 10. Bacterias aisladas en las muestras de superficies: Utensilios de la sala de operaciones 2, antes y después de la desinfección.....	83
Tabla 11. Bacterias aisladas en las muestras de superficies: Recursos utilizados por el personal en la sala de operaciones 2, antes y después de la desinfección.....	85
Tabla 12. Bacterias identificadas en las muestras de superficies: Recursos utilizados para el paciente en la sala de operaciones 2, antes y después de la desinfección.....	86
Tabla 13. Bacterias identificadas antes y después de la desinfección en las salas de operaciones 1 y 2.....	87
Tabla 14: Bacterias aisladas del ambiente antes y después de la desinfección en la sala de operaciones 1 y 2.....	90

LISTA DE GRÁFICOS

CONTENIDO	PÁG.
Gráfico 1. Distribución de la cantidad de muestras de las superficies de las salas de operaciones 1 y 2 según ubicación, momento de muestreo y área de trabajo.....	68
Gráfico 2. Bacterias aisladas en las diferentes tomas de muestras en las superficies en la sala de operaciones 1, según el área de muestreo.....	70
Gráfico 3. Bacterias aisladas en las diferentes tomas de muestras en las superficies en sala de operaciones 2, según el área de muestreo.....	73
Gráfico 4. Comparación de los resultados de aislamiento de bacterias de las superficies de salas de operaciones 1 y 2, según el área de muestreo.....	76
Gráfico 13.1 Bacterias identificadas antes y después de la desinfección de la sala de operaciones 1.....	88
Gráfico 13.2 Bacterias identificadas antes y después de la desinfección de la sala de operaciones 2.....	89
Gráfico 14. Bacterias aisladas del ambiente antes y después de la desinfección de las de salas de operaciones 1 y 2.....	92

LISTA DE FÍGURAS

CONTENIDO	PÁG.
Figura 1. Clasificación de las bacterias.....	107
Figura 2. Pared bacteriana.....	108
Figura 3. Estructura bacteriana.....	109
Figura 4. Procedimiento de la coloración de Gram.....	110
Figura 5. Morfología de las colonias bacterianas.....	111
Figura 6. Tipos de hemólisis en Agar Sangre de Carnero al 5%.....	112
Figura 7. Prueba de la catalasa.....	113
Figura 8. Prueba de la coagulasa.....	114
Figura 9. Bioquímica de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	115
Figura 10. Bioquímica de <i>Escherichia coli</i>	116
Figura 11. Bioquímica de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	117
Figura 12 Bioquímica de <i>Proteus mirabilis</i>	118
Figura 13. Técnicas de siembra.....	119
Figura 14. Vestimenta y lavado de manos.....	120
Figura 15. Preparación de medios y siembra de muestras.....	121
Figura 16. Toma de muestras en las salas de operaciones.....	122
Figura 17. Bacterias aisladas en las salas de operaciones 1 y 2.....	123
Figura 18. Sala de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima.....	126

LISTA DE ANEXOS

CONTENIDO	PÁG.
Anexo 1. Cronograma de actividades que se realizó en el proceso de graduación.....	127
Anexo 2. Cronograma de actividades específicas.....	128
Anexo 3. Prueba de la catalasa.....	129
Anexo 4. Prueba de la oxidasa.....	130
Anexo 5. Prueba de la coagulasa.....	130
Anexo 6. Pruebas bioquímicas.....	131
Anexo 7. Preparación de los medios de cultivo.....	135
Anexo 8. Resultados de pruebas bioquímicas.....	140
Anexo 9. Formulario de toma de muestras.....	141
Anexo 10. Hojas de estadística.....	142
Anexo 11. Presupuesto y financiamiento.....	143
Anexo 12. Definición de términos básicos.....	144

RESUMEN

La presencia de bacterias en el ambiente hospitalario causa infecciones que constituyen un problema de salud que afecta la calidad y la eficiencia de los servicios médicos y son de gran trascendencia económica y social. El **Objetivo** de la investigación es: Identificar bacterias en el ambiente y superficies de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima en el período de junio a julio del presente año. La **Metodología**: El estudio es prospectivo, de corte transversal, descriptivo, de laboratorio. El estudio se realizó en las salas de operaciones 1 y 2, de las cuales se muestrearon ambiente y superficies

Resultados Obtenidos: En la sala de operaciones 1 se aisló *Pseudomonas aeruginosa* en un 16.0%, *Proteus mirabilis* 12.0%, *Escherichia coli* 4.0%, *Staphylococcus epidermidis* 16.0% y *Staphylococcus aureus* 8.0%. En la sala de operaciones 2 se aisló *Pseudomonas aeruginosa* en un 16.7%, *Proteus mirabilis* 4.2%, *Staphylococcus epidermidis* 8.3%, *Staphylococcus aureus* 8.3%.

Conclusión: Estadísticamente se acepta la hipótesis de trabajo que se enuncia: Se aíslan e identifican bacterias en el ambiente de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, Departamento de La Unión y se aíslan e identifican bacterias en las superficies de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, Departamento de la Unión.

Palabras claves: Bacterias nosocomiales, contaminación, cultivo, crecimiento bacteriano.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones intrahospitalarias son un problema actual y de constante evolución en todo el mundo. Aunque desde hace siglos ha existido un gran interés por el tema pero ha sido hasta hace pocas décadas que el campo ha tenido aceptación general que las reconoce como un problema relevante de la salud pública de gran trascendencia económica y social, además de constituir un desafío para las instituciones hospitalarias y para los cirujanos responsables de la atención a los pacientes.

Las infecciones nosocomiales influyen negativamente en la calidad de vida de los pacientes, tienen importancia clínica y epidemiológica debido a que condicionan altas tasas de morbilidad y mortalidad, aumentan los días de hospitalización, costos de atención, afectan la economía familiar y ocasionan inseguridad en los usuarios hacia las instituciones de salud.

Tanto en los países desarrollados como subdesarrollados, se han hecho estudios que han señalado conductas observadas para la realización de los procedimientos quirúrgicos y terapéuticos, como un elemento central para la solución al problema.

En la cirugía moderna, el descubrimiento y la utilización amplia de antibióticos han traído como consecuencia un relajamiento en el cumplimiento de las medidas de asepsia por la falsa sensación de seguridad que proviene de contar con dichos elementos en el tratamiento de las infecciones.

La infección intrahospitalaria es aquella que se desarrolla dentro de un hospital y que no está presente o incubándose en el momento de ingreso del paciente a la institución. Clínicamente se conoce que las infecciones que los pacientes desarrollan en las primeras 48 horas de estancia hospitalaria son consideradas como adquiridas fuera del hospital. Pasado ese tiempo, todo proceso infeccioso es considerado una infección intrahospitalaria.

En la actualidad, como respuesta a las exigencias planteadas por los usuarios del sistema de salud, día a día se establecen nuevos programas para el control de las infecciones intrahospitalarias, a fin de mejorar la calidad de los servicios prestados por los establecimientos de atención.

El Salvador participó en la conferencia de la OPS/OMS (Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud) y fundó en noviembre de 1978 el primer Comité de Prevención y Control de Infecciones Nosocomiales en el Hospital Nacional Rosales, el cual funciona interrumpidamente hasta la fecha.

En el Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, existe un comité de infecciones nosocomiales para la detección de casos, sin embargo existe la limitante de no contar con el área de bacteriología, a pesar de los esfuerzos que se realizan en dicho servicio enviando cultivos a una institución privada para tener un control de esterilidad de las salas de operaciones.

Para dicha problemática se realizó un estudio bacteriológico en el ambiente y superficies de las 2 salas de operaciones favoreciendo a dicha institución en la disminución de gastos, permanencia hospitalaria de los pacientes y mantener una buena vigilancia de las infecciones nosocomiales.

1.0 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 ANTECEDENTES

Se conocen como infecciones intrahospitalarias o nosocomiales a las que se adquieren en el hospital u otro servicio de salud, es decir que no estaba presente ni en período de incubación cuando el paciente ingresó a dicho centro. Como regla general se establece un plazo de 48-72 horas luego del ingreso hospitalario para establecer que la infección ha sido adquirida en ese centro de salud. Son una causa frecuente de complicaciones en las personas que han sido hospitalizadas. Las infecciones nosocomiales pueden ocurrir en personas de cualquier edad, desde recién nacidos hasta ancianos, sin importar cuál fue el motivo de la estancia hospitalaria inicial, aunque las personas con un mal funcionamiento del sistema inmunológico pueden ser más propensas a contraer estas infecciones.¹

Una elevada frecuencia de infecciones nosocomiales comprueba la calidad deficiente de la prestación de servicios de atención de salud y ocasiona costos evitables. Muchos factores contribuyen a la frecuencia de las infecciones nosocomiales: los pacientes hospitalizados sufren a menudo compromiso inmunitario, se someten a exámenes y tratamientos invasivos y las prácticas de atención de los pacientes y el medio del hospital pueden facilitar la transmisión de microorganismos entre ellos. Si bien se ha logrado progresar en la prevención de las infecciones nosocomiales, las modificaciones del ejercicio de la medicina presentan constantemente nuevas oportunidades de manifestación de infecciones. Las infecciones quirúrgicas continúan siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad en los pacientes sometidos a una intervención quirúrgica, a pesar de la mejora en las técnicas operatorias. Son las responsables del 14% al 16% de todas las infecciones nosocomiales y constituyen la segunda causa de infección intrahospitalaria después de las urinarias.

El comité de infecciones nosocomiales es un grupo multidisciplinario que diseña estrategias de prevención y control de las infecciones intrahospitalarias.

Tienen como función: elaborar documentos (normas, guías, políticas) sobre la prevención y control de las infecciones intrahospitalarias en pacientes y personal; complementar lo establecido en las normas de bioseguridad de la institución; realizar programa de capacitación del personal; evaluar el cumplimiento e impacto de las intervenciones aplicadas en el comité de infecciones nosocomiales controlar que el hospital garantice el saneamiento ambiental básico.²

Las infecciones nosocomiales y de sitio quirúrgico del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, en España en el año 2005 los gérmenes más frecuentemente aislados en la infección de sitio quirúrgico son *Escherichia coli* 43.6 % y *Pseudomonas aeruginosa* 15%.³

Las infecciones de heridas quirúrgicas en cirugía general, hospital tipo IV de Barcelona Venezuela. Entre el 1° de octubre del 2007 y el 31 de diciembre de 2007 se encontró que de las 152 operaciones analizadas hubo incidencia de 32 casos de infecciones de sitio quirúrgico, agentes etiológicos encontrados *Escherichia coli* 25%, *Klebsiella pneumoniae* 15.6 %, *Acinetobacter* sp. 12.5%

En El Salvador, los comités de prevención y control de las infecciones nosocomiales, iniciaron su funcionamiento a partir de la iniciativa de la organización panamericana de la salud (OPS), quien desarrollo en 1978 el seminario motivacional: “Control de infecciones nosocomiales“, dirigido al personal que proporcionaba atención directa del ministerio de salud pública y asistencia social (MSPAS), especialmente a nivel de hospital.⁴

Son las más frecuentes en los pacientes operados y en algunos hospitales son las de mayor incidencia entre las infecciones nosocomiales, su génesis es un proceso complejo en el que los factores ambientales de huésped, de la sala de operaciones, de la propia cirugía y de los microorganismos involucrados interactúan de tal forma que permiten su desarrollo.⁵

Un estudio realizado entre Julio a Septiembre de 2010 en el Hospital Nacional de Nueva Guadalupe, Departamento de San Miguel, para comprobar la presencia de bacterias, en el ambiente, paredes, suelos, materiales e instrumentos de las salas de operaciones. Donde se comprobó que existen bacterias como: De un 100% se obtuvo un 32.1% *Staphylococcus aureus*, un 6.1% *Staphylococcus coagulasa* negativa, un 3.8% de *Pseudomonas aeruginosa*, un 0.8% *Enterobacter agglomerans*.

Un estudio realizado entre Julio a Septiembre de 2007 en el Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, Departamento de La Unión, para comprobar la presencia de bacterias en las superficies, materiales e instrumentos de las salas de operaciones. Donde se comprobó que existen bacterias como: De un 100% se obtuvo un 53.12% *Staphylococcus aureus*, un 13.12% *Staphylococcus epidermidis*, un 3.12% *Escherichia coli*, un 12.5% *Acinetobacter* sp, un 28.12% *Bacillus subtilis*.

En el Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima departamento de La Unión se creó el comité de infecciones nosocomiales en el mes de marzo del año 2008.⁶

Un estudio realizado entre Mayo a Agosto de 2012 en el Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, departamento de La Unión para investigar la presencia de bacterias relacionadas con las enfermedades de asistencia sanitaria en los quirófanos de dicho hospital en el cual se aisló un 90% *Pseudomonas aeruginosa* y un 6% *Enterobacter* sp. y un 4% *Staphylococcus aureus*.

1.2 ENUNCIADO DEL PROBLEMA

De la problemática antes descrita se enuncian las siguientes interrogantes:

¿Se aislarán e identificarán bacterias en el ambiente y superficies de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima?

A demás se dio respuesta a los siguientes enunciados específicos:

¿Se encontraran las mismas especies bacterianas en el ambiente y en las superficies de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima?

¿Cuál es la bacteria más frecuente aislada en el ambiente y superficies de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima?

1.3 JUSTIFICACIÓN

Las infecciones nosocomiales son un problema actual y en constante evolución en todo el mundo. Aunque desde hace siglos ha existido un gran interés por el tema, ha sido hasta hace pocas décadas que en el campo ha tenido aceptación general que las reconoce como un problema relevante de la salud pública de gran trascendencia económica y social, además de constituir un desafío para las instituciones hospitalarias y para los cirujanos responsables de la atención de los pacientes. Las infecciones nosocomiales influyen negativamente en la calidad de vida de los pacientes; aumenta los días de hospitalización, costos de atención, afectan la economía familiar y ocasionan inseguridad en los usuarios hacia las instituciones de salud.

El Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima se ve afectado por esta problemática dicha institución cuenta con 2 salas de operaciones en las cuales se realizan 107 cirugías mensuales con un promedio de 4 cirugías diarias, el hospital cuenta con datos epidemiológicos de infecciones hospitalarias donde se muestra una alta frecuencia de casos, desde el 2011 hasta la fecha con un promedio de 40 infecciones de sitio quirúrgico, el cual cuenta con un comité de infecciones nosocomiales encargado de controlar que el hospital garantice el saneamiento ambiental básico esta se ve afectada ya que una de las deficiencias del hospital es que no cuenta con el área de bacteriología en su laboratorio por lo que carece de un control de esterilización y comprobación de aislamiento de bacterias en las salas de operaciones. Con la investigación se ayudó a los profesionales de salud de dicha institución ya que no han realizado ningún tipo de estudio bacteriológico de ambiente y superficies en los últimos meses. De tal manera el Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima se benefició con dicha investigación por que permitió conocer la magnitud del problema, la flora bacteriana de dicho lugar, así mismo se dio a conocer las especies bacterianas que se aislaron e identificaron y que indican contaminación de las áreas en estudio. Conscientes de que el profesional de salud está directamente comprometido a asegurar una atención eficaz, con calidad y libre de riesgos a

todos los usuarios que demandan procedimientos seguros a fin de evitar complicaciones que se puedan presentar; por lo tanto se realizó la presente investigación con el fin de tomar como base los resultados obtenidos y proponer alternativas de solución en la prevención de las infecciones nosocomiales lo que beneficia a los pacientes que reciben atención en dicho hospital.

2.0 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 OBJETIVO GENERAL

1. Aislar bacterias en el ambiente y superficies de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima.
2. Identificar bacterias en el ambiente y superficies de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima.

2.2 OBJETIVOS ESPÉCIFICOS

1. Obtener la muestra del ambiente de salas de operaciones utilizando placas de Agar Tripticosa Soya abiertas durante 24 horas.
2. Determinar las bacterias más frecuentes aisladas en el ambiente y superficies de las salas de operaciones 1 y 2
3. Identificar donde existe mayor predominio de aislamientos de bacterias en las superficies de las salas de operaciones antes y dos horas después de la desinfección.
4. Comparar el crecimiento bacteriano de las salas de operaciones antes y dos horas después de la desinfección

3.0 MARCO TEÓRICO

3.1 GENERALIDADES DE LAS BACTERIAS

Tamaño y forma de las bacterias. Las bacterias son células procarióticas que tienen una gran variedad de formas y tamaños. Por lo general miden de 0.2 a 2 μm de diámetro y 1 a 6 μm de largo. Existen cuatro morfologías básicas de las bacterias: las células esféricas o cocos, las células en forma de bastón o bacilos, células en forma de espiral o espirilos y células con forma de coma llamada vibriones (Ver figura 1) La disposición de los cocos en pares, cadenas o racimos se denominan respectivamente; diplococos, estreptococos y estafilococos.⁷

3.1.1 CARACTERÍSTICAS DE TINCIÓN

Además de su tamaño, forma y disposición celular, otro criterio de diferenciación de las bacterias se basa en sus características de tinción con la coloración de Gram con esta técnica de tinción, la mayor parte de las bacterias pueden ser clasificadas como Grampositivas o Gramnegativas (Ver figura 2). La coloración de Gram diferencia a las bacterias sobre la base de la estructura de la pared celular.

Las Grampositivas se tiñen de morado ya que el colorante se queda atrapado en la capa gruesa de peptidoglucano que rodea a la célula.

Las Gramnegativas tienen una capa de peptidoglucano mucho más delgada es por ello que no retiene el violeta cristal y por esto las células se tiñen con safranina y las observamos rojas.

ESTRUCTURAS DE LA CÉLULA BACTERIANA

Las bacterias son células procarióticas, las técnicas de microscopía revelan que una célula bacteriana está formada por diversas estructuras que funcionan conjuntamente. Algunas de estas estructuras se encuentran unidas a la superficie de la pared celular, mientras que otras se encuentran dentro de la célula. Algunas son comunes a todas las células como son el Citoplasma y la Membrana Citoplasmática; mientras que otras estructuras están presentes solo en ciertas especies o aparecen en determinadas condiciones ambientales.

Una típica célula bacteriana tiene las siguientes estructuras:

- a) Glicocalix: Es una estructura que está compuesta por polímeros de azúcares (polisacáridos), la cual le ayuda a adherir, resistir y proporcionar patogenicidad y virulencia a la célula.
- b) Pared celular: Es una estructura rígida que mantiene la forma característica de cada célula bacteriana.
- c) Periplasma: Espacio entre la pared celular y la membrana citoplasmática.
- d) Membrana citoplasmática: Estructura que separa el citoplasma de la pared celular. Está compuesta de proteínas, lípidos y carbohidratos.
- e) Citoplasma: Es una solución coloidal que contiene elementos nucleares, inclusiones citoplasmáticas (vacuolas y vesículas, etc.) y ribosomas.
- f) Flagelos: Son estructuras de locomoción que se extienden desde el citoplasma a través de la pared celular y son los responsables de la motilidad. Están compuestos de una proteína llamada flagelina.
- g) Pili o Fimbrias: Son estructuras piliformes que no tienen nada que ver con el movimiento, si no que se relacionan con la adherencia a superficies y la conjugación bacteriana, los cuales están formados por subunidades de proteína llamada pilina.

h) Las esporas: Es importante mencionar que las bacterias pueden sufrir cambio en su estructura, proceso denominado ESPORULACIÓN; que consiste en una metamorfosis generada por condiciones desfavorables para su sobrevivencia como pueden ser: Falta de nutrientes y agua; cambios de Ph y en el medio ambiente de crecimiento, cambios en la temperatura y otros factores nocivos a las células.

En la esporulación se forma una cubierta gelatinosa gruesa que genera resistencia al calor, la deshidratación a la radiación y a las sustancias químicas; esta propiedad la hace permanecer latente por muchos años y su eliminación solo se puede lograr con vapor calentando a 121°C; bajo presión (autoclave) por 30 minutos.

g) Cápsula: Es una cubierta gelatinosa que recubre completamente algunas bacterias y que las protege de la fagocitosis. La capsula tiene cuatro funciones:

- Determina la virulencia de muchas bacterias.
- Permite la identificación específica del microorganismo con el uso de antisuero contra el polisacárido capsulado.
- Los polisacáridos capsulares se utilizan como antígenos en ciertas vacunas.
- Es posible que la capsula intervenga en la adherencia de bacterias a los tejidos humanos parte importante para que se desarrolle la infección.⁸

En la célula bacteriana su genoma está constituido por un único cromosoma circular de DNA, de cadena doble cerrado de manera covalente (dsDNA). El cromosoma circular, denominado nucleoide, no se encuentra unido a la membrana pero se encuentra libre en el citoplasma en una porción central aislada de la célula bacteriana (Ver figura 3).

3.2 CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS

Las bacterias pueden clasificarse de la siguiente manera:

- Según su requerimiento de oxígeno.
- Según su temperatura óptima de crecimiento.
- Según su forma y agrupamiento.

Según su requerimiento de oxígeno las bacterias pueden ser:

- **Aerobias:** Crecen bien en la atmósfera que respiramos es decir en presencia de oxígeno, el cual requiere para su sobrevivencia.
- **Microaerofílicas:** Crecen mejor en presencia de pocas cantidades de oxígeno.
- **Anaerobias:** Son incapaces de crecer en presencia de oxígeno el cual es sumamente toxico e impide su crecimiento.
- **Facultativas:** Son capaces de crecer en presencia o en ausencia de oxígeno.⁹

Según la temperatura óptima de crecimiento, pueden ser:

- **Mesófilas:** Crecen en una temperatura intermedia semejante a la temperatura del cuerpo humano, aquí se incluye a las bacterias patógenas por esta razón la temperatura que deben tener la incubadora bacteriológica es de 36° C.
- **Termófilas:** Son las que crecen a altas temperaturas, o sea un calor de 45 – 60° C.
- **Criófilas:** Estas crecen a temperatura baja, estas necesitan frio para crecer.
- **Psicotróficas o psicrófilas:** Necesitan temperatura de refrigeración de 0°C o menos.
- **Alófilas:** Se necesitan altas concentraciones de sal para su crecimiento aproximadamente de 10 – 15 % de sal y son aisladas de alimentos.

Según su forma de agrupamiento pueden ser:

- Cocos: son bacterias de forma redonda o esférica.

Ejemplo:

- Diplococos: cocos en grupo de dos.
- Tetracocos: cocos en grupo de cuatro.
- Streptococos: cocos en cadenas.
- Estafilococos: cocos en agrupaciones irregulares o en racimos.

- Bacilos: son bacterias en forma alargada similar a un bastoncillo.

Ejemplo:

- Difteroides: bacilo en forma de maza.
 - Bacilos con bordes redondeados.
 - Bacilos con bordes cuadrados.
- Espiroquetas: son bacterias alargadas y retorcidas en forma de resorte y espiral.

Ejemplo:

- Espirilo: en forma helicoidal rígida.

3.3 MEDIOS DE CULTIVO

DEFINICIÓN:

Es un gel o solución que cuenta con los nutrientes necesarios para recuperar, multiplicar, aislar e identificar microorganismos.

3.3.1 CLASIFICACIÓN

Los medios de cultivo pueden clasificarse en base a:

A) SEGÚN SU ESTADO FÍSICO (CONSISTENCIA)

1) Medios líquidos: Son los que se presentan en este estado, denominándose por esta razón caldos. El medio líquido más utilizado es el llamado caldo nutritivo, compuesto principalmente de extracto de carne, peptona y agua. Se utiliza fundamentalmente cuando se pretende la obtención de una suspensión bacteriana de una determinada concentración.

2) Medios sólidos: Se preparan a partir de los medios líquidos, agregándoles un agente gelificante. Los más utilizados son la gelatina y el agar. Gelatina: Es una proteína animal obtenida de los huesos. Tiene el inconveniente de que es hidrolizada por muchas bacterias, y además su uso está muy limitado porque su punto de fusión es bajo (licúa a temperatura ambiente) razón por la que no puede utilizarse para cultivos a 37°C, que es la temperatura óptima de crecimiento para muchos microorganismos. Agar-agar: Es un polímero de azúcares obtenido de algas marinas. Se trata de una molécula insoluble en agua pero soluble en agua caliente; una solución al 1,5% p/v forma un gel firme entre 32 y 39°C y no se funde por debajo de 85°C. Funde a 90°C y solidifica una vez fundido alrededor de los 45°C.

3) Medios semisólidos: Se preparan a partir de los medios líquidos, agregando a éstos un agente solidificante en una proporción menor que para preparar medios sólidos. Uno de sus usos es la investigación de la movilidad de las bacterias.

B) SEGÚN SU UTILIZACIÓN

1) Medios comunes: Son aquellos que poseen los componentes mínimos para que pueda producirse el crecimiento de bacterias que no necesiten

requerimientos especiales. El medio más conocido de este grupo es el agar nutritivo o agar común, que resulta de la adición de agar al caldo nutritivo. Otros representantes de este grupo son el agar Tripticasa de Soya, el agar Columbia, etc.¹⁰

2) Medios de enriquecimiento: Son aquellos que, además de las sustancias nutritivas normales, incorporan una serie de factores indispensables para el crecimiento de microorganismos exigentes. Este enriquecimiento se hace por adición de sangre u otros productos biológicos (sangre, suero, leche, huevo, bilis, etc.) que aportan dichos factores. En ocasiones es posible añadir suplementos artificiales a los medios para producir un enriquecimiento del mismo (Por ejemplo: Polivitex, Isovitalex, etc.) El gonococo, por ejemplo, necesita cistina y cisteína para su crecimiento. Estas sustancias son aportadas por la sangre calentada adicionada al medio de cultivo (agar chocolate).

3) Medios selectivos: Son medios utilizados para favorecer el crecimiento de ciertas bacterias contenidas en una población polimicrobiana. El fundamento de estos medios consiste en facilitar nutricionalmente el crecimiento de una población microbiana específica. Un ejemplo de medio selectivo es el caldo selenito, que se utiliza para favorecer el crecimiento de salmonellas y frenar el del resto de enterobacterias.

4) Medios inhibidores: Cuando las sustancias añadidas a un medio selectivo impiden totalmente el crecimiento de una población microbiana, se denomina inhibidor. Los medios inhibidores podrían considerarse como una variante más restrictiva de los medios selectivos. Los medios inhibidores se consiguen habitualmente por adición de sustancias antimicrobianas o de cualquier otra que inhiba completamente el desarrollo de una población determinada. Un medio inhibidor es el MacConkey que permite el crecimiento de los gérmenes Gram negativos e impide el crecimiento de los Gram positivos.

5) Medios diferenciales: Se utilizan para poner en evidencia características bioquímicas que ayuden a diferenciar géneros o especies. La adición de un

azúcar fermentable o un sustrato metabolizable se utilizan para este fin. El medio MacConkey es un medio diferencial porque permite distinguir los gérmenes que fermentan la lactosa de aquellos que no lo hacen. También lo son el Agar Cistina Lactosa Electrolitos Deficiente (C.L.E.D.), el Agar Salmonella - Shigella (que es doblemente diferencial), etc.

6) Medios de identificación: Son los destinados a comprobar alguna cualidad específica que puede servirnos para reconocer la identidad de un microorganismo. Estos medios han de poseer los elementos necesarios para asegurar el crecimiento de los microorganismos, el sustrato específico que vaya a ser metabolizado y el indicador que nos muestre el resultado. El agar Kligler, el medio de Simmons y en general, cualquier medio al que se le haya añadido un elemento diferencial de un microorganismo, son medios utilizados en identificación.

7) Medios de multiplicación: Sirven para obtener una gran cantidad de células a partir de un microorganismo ya aislado. Se emplean en la obtención de vacunas, en la investigación y en la industria. Los medios más adecuados para la multiplicación suelen ser líquidos. El caldo-infusión cerebro-corazón (BHI), es un ejemplo típico de estos medios.

8) Medios de conservación: Se utilizan para conservar una cepa que, por diversas razones nos interese mantener. Fundamentalmente se utilizan como controles de calidad de las pruebas y reactivos utilizados en el laboratorio de Microbiología.

En el laboratorio se pueden conservar las cepas de tres formas:

- a. Haciendo pases periódicos de placa a placa.
- b. Mediante liofilización de una suspensión bacteriana.
- c. Congelando las cepas en leche descremada estéril al 0,1%.

9) Medios de transporte: Se usan para el transporte de muestras clínicas que no pueden sembrarse inmediatamente. Su utilización debe hacerse introduciendo la torunda con la que se obtuvo la muestra en el interior del medio (generalmente en un tubo). Son ejemplos típicos de este grupo los medios de Stuart-Amies, Cary-Blair, etc.

C) SEGÚN SU COMPOSICIÓN:

- a) **Simple:** medios con pocos requerimientos nutricionales que se emplean para bacterias pocos exigentes.
- b) **Enriquecido:** son medios sólidos, se preparan a partir de una base rica en sustancias nutritivas, a las cuales se les adiciona productos biológicos que los hacen más ricos como el Agar Sangre al 5%, Agar chocolate, Agar Thayer Martin.

D) SEGÚN SU ORIGEN:

- a) **Naturales:** son los preparados a partir de sustancias naturales de origen animal o vegetal como ser extractos de tejidos o infusiones y cuya composición química no se conoce exactamente.
- b) **Sintéticos:** Son los medios que contienen una composición química definida cualitativa y cuantitativamente.
- c) **Semisintéticos:** Son los sintéticos a los que se les añaden factores de crecimiento bajo una forma de un extracto orgánico complejo, como por ejemplo extracto de levaduras.¹¹

3.3.2 COMPONENTES DE LOS MEDIOS DE CULTIVOS

a) Aminoácidos, hidrolizados de proteínas (peptonas), extractos, productos biliados, carbohidratos, productos bioquímicos, colorantes e indicadores. Ejemplo asparagina y glutamina.

b) Productos bioquímicos: a los medios de cultivo se les agrega generalmente una diversidad de sustancias bioquímicas, que pueden tener el efecto de estimular el desarrollo bacteriano o ser agente selectivo, como en el caso de los antibióticos.

c) Colorantes e indicadores: estas sustancias se utilizan en los medios selectivos y diferenciales. Los colorantes actúan como un agente bacteriostático o como inhibidores del crecimiento. Se utilizan principalmente. Ejemplo fucsina básica, verde brillante, verde de malaquita, cristal violeta, eosina, azul de metileno, tionina.

Los indicadores son sustancias químicas que varían de color según el pH del medio. Se utilizan en los medios diferenciales y permiten visualizar, por cambio de color del medio de cultivo o de las colonias, la ocurrencia de distinta reacciones bioquímicas. Ejemplo: Rojo fenol, azul bromotimol, fenoftaleína incoloro.¹²

3.4 CONDICIONES DE CRECIMIENTO:

- Humedad: Actúa como vehículo para llevar alimento a la célula y desechos fuera de ella, es el medio más apropiado para el crecimiento y reproducción de las bacterias, pero la mayoría pueden sobrevivir prolongados periodos de tiempo en pus, esputo, sangre seca u otras secreciones.
- Temperatura: A temperatura entre 20°C y 37°C las bacterias se multiplican rápidamente, pero ciertas formas de ellas pueden soportar temperaturas arriba del punto de ebullición y debajo del punto de congelación.
- PH: En un ambiente ligeramente alcalino entre 7.1 y 7.4, favorece el crecimiento bacteriano y más si es oscuro, cálido y húmedo.
- Oxígeno: Favorece el metabolismo y crecimiento de muchas bacterias, la cantidad de oxígeno necesario para el crecimiento bacteriano.

3.5 INFECCIONES NOSOCOMIALES

Las infecciones nosocomiales son infecciones contraídas durante una estadía en el hospital que no se habían manifestado ni estaban en período de incubación en el momento de internado de paciente. Las infecciones que ocurren más de 48 horas después de internado suelen considerarse nosocomiales. Se han establecido definiciones para identificar las infecciones nosocomiales en determinados sitios del organismo (por ejemplo, infecciones urinarias, pulmonares). Los cambios en la prestación de servicios de salud han redundado en menores períodos de hospitalización y ampliado la atención ambulatoria. Se ha señalado que los términos infecciones nosocomiales deben comprender infecciones que ocurren en pacientes tratados en cualquier establecimiento de atención de salud. Las infecciones contraídas por el personal o por visitantes al hospital o a otro establecimiento de esa índole también pueden considerarse infecciones nosocomiales.¹³

3.5.1 FUENTES Y MECANISMOS COMUNES DE TRANSMISIÓN DE MICROORGANISMO

Las bacterias causantes de las infecciones nosocomiales pueden transmitirse de varias formas:

- La flora permanente o transitoria del paciente (infección endógena). Las bacterias presentes en la flora normal causan infección por transmisión a sitios fuera del hábitat natural (vías urinarias), daño a los tejidos (heridas) o un tratamiento inapropiado con antibióticos que permite la proliferación excesiva (*Clostridium difficile*, levaduras). Por ejemplo, las bacterias Gramnegativas en el aparato digestivo causan a menudo infección en el sitio de una herida después de una intervención quirúrgica abdominal o urinaria en pacientes sometidos a cateterización.

- La flora de otro paciente o miembro del personal (infección cruzada exógena). Estas se transmiten de un paciente a otro:
- a) Por medio de contacto directo entre pacientes (manos, gotitas de saliva o de otros humores corporales).
 - b) Por el aire (gotitas o polvo contaminado con bacterias de un paciente).
 - c) Por medio de personal contaminado durante la atención del paciente (manos, ropa, nariz y garganta) que se convierte en portador transitorio o permanente y que ulteriormente transmite bacterias a otros pacientes mediante contacto directo durante la atención.
 - d) Por medio de objetos contaminados por el usuario (incluso el equipo), las manos del personal, los visitantes u otros focos de infección ambientales (por ejemplo, agua, otros líquidos, alimentos). La flora del ambiente de atención de salud (infecciones ambientales exógenas endémicas o epidémicas).

Varios tipos de microorganismos sobreviven bien en el ambiente del hospital: En agua, zonas húmedas y, a veces, en productos estériles o desinfectantes (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Mycobacterium*).

En artículos como ropa de cama, equipo y suministros empleados en la atención; la limpieza apropiada normalmente limita el riesgo de supervivencia de las bacterias, puesto que la mayoría de los microorganismos necesitan condiciones húmedas o calientes y nutrientes para sobrevivir. En los alimentos, en el polvo fino y los núcleos de gotitas generados al toser o hablar (las bacterias de menos de 10 μm de diámetro permanecen en el aire por varias horas y pueden inhalarse de la misma manera que el polvo fino).¹⁴

3.6 SALA DE OPERACIONES

Lugar habitual en donde se realizan las intervenciones quirúrgicas y que presenta las siguientes características: control ambiental para disminuir la contaminación aérea, servicios para el equipamiento quirúrgico y anestésico, mesa de operaciones que permite el posicionamiento adecuado del paciente, iluminación artificial adecuada a los requerimientos quirúrgicos y medidas de seguridad para el enfermo y el personal sanitario.¹⁵

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA SALA DE OPERACIONES

Superficie: Indica el límite y extensión de los cuerpos, paredes, lámpara, mesa quirúrgica, mesa circular, aire acondicionado, grifo, techo.

- Todas ellas serán lisas, continuas, de fácil lavado y resistentes a productos de limpieza y desinfección
- Los suelos serán antideslizantes

Esta área se encuentra restringida en la cual solo podrá ingresar el personal asignado con su respectiva vestimenta (gorro, camisa, pantalón y zapateras) tomando en cuenta las medidas de bioseguridad pertinentes.

Equipos médicos utilizados en las salas de operaciones:

Mesa quirúrgica Es la herramienta que emplea el cirujano en la intervención quirúrgica para el posicionamiento adecuado del paciente lámpara cielítica es el equipo que produce características de luz brillantes, y con toda una gama de flexibilidad mecánica y ópticas requeridas en cirugía.

Mesa mayo es generalmente de acero inoxidable, posee un solo pie que termina en rueditas para poder desplazarse. Se colocó sobre el paciente pero no en contacto con él, y se utiliza para colocar aquellos instrumentos que el instrumentista utilizará en los primeros tiempos.

Negatoscopio es una pantalla luminosa constituida por un cristal esmerilado y alumbrado por detrás, sobre el cual se ponen radiografías para observarlos por transparencia.

Limpieza en las salas de operaciones

Es el primer paso de la desinfección, la cual vuelve seguro el equipo o área para la manipulación o su uso cuando se ha limpiado previamente, se han respetado la concentración y el tiempo de exposición, así como otros factores como las vigencias del producto y condiciones de almacenamiento. La limpieza se divide en terminal y recurrente y se refiere a la frecuencia y el uso o no de desinfectantes, la técnica siempre debe ser la misma, de las partes más limpias a las más contaminadas, de arriba hacia abajo.

Se requiere una desinfección de alto nivel con limpieza en húmedo, lavado profundo de las superficies de paredes y pisos, mobiliario empotrado, debe realizarse al menos una a la semana utilizando cepillo en ranura con agua y jabón, luego de enjuagar aplicar desinfectante.

3.7 DIAGNÓSTICO DE BACTERIAS

Un paso fundamental para el diagnóstico bacteriológico es el aislamiento de las bacterias en cultivo puro. Luego por procedimientos de laboratorio de naturaleza variada, ya sean estos tradicionales o automatizados, se verifican pruebas bioquímicas, coloraciones, serología, por lo tanto es de gran importancia poder realizar las técnicas para la obtención de cultivos puros para aislar el agente causal e identificarlo.

PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO PARA LA IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

- Características microscópicas. El estudio microscópico en fresco y tras tinción revela la forma, la manera de agruparse, la estructura de las células y su tamaño. Las tinciones son el primer paso, y ocasionalmente el único para la identificación bacteriana. Las tinciones más utilizadas e imprescindibles son la de azul de metileno y la de Gram.¹⁶
- La tinción Gram es, a menudo, la primera y única herramienta de la que nos servimos para hacer un diagnóstico provisional en el proceso de identificación de la mayoría de las bacterias teniendo en cuenta también el tipo de muestras y el diagnóstico presuntivo del proceso infeccioso. (Ver figura 4)
- Características macroscópicas.
Morfología. La morfología de las colonias es fundamental en la identificación preliminar y para la diferenciación de los microorganismos. Para la observación morfológica es preferible examinar colonias de cultivos frescos crecidas en medios no selectivos. Las colonias de una única especie, cuando crecen en medios específicos y bajo condiciones ideales se describen por sus 5 características de tamaño, forma consistencia, y a veces por su color. El tamaño de las colonias bacterianas es generalmente uniforme entre una misma especie. Por ejemplo, las colonias de estreptococos tienen tamaño más pequeño que las de los estafilococos y las enterobacterias. La forma está determinada por los bordes y el grosor de la colonia. El borde puede ser liso o rugoso e irregular, la colonia abultada o plana. La textura de la colonia es también importante. Puede variar desde seca a viscosa, con superficie lisa o granular (Ver figura 5). Algunos microorganismos producen una colonia pigmentada, lo que puede ser de ayuda en el proceso de identificación. Por ejemplo: *Pseudomonas aeruginosa* (pigmento verde)

Serratia marcescens (pigmento rojo) aunque en una misma especie pueden haber cepas no pigmentadas.¹⁷

- Hemólisis. Algunas bacterias producen hemolisinas que causan la lisis de los hematíes en medios que contienen sangre. Esta hemólisis puede ser beta (zona clara alrededor de la colonia) (Ver figura 6-A) o alfa (halo verdoso alrededor de la colonia). (Ver figura 6-B)¹⁸
- Medios de cultivo. En los medios de cultivo de bacterias se multiplican y es necesario esperar al menos 18-24 horas para visualizarlas.
En términos generales todas las bacterias tienen unos requerimientos nutricionales imprescindibles para su crecimiento. Necesitan una fuente de energía, una fuente de carbono, una fuente de nitrógeno, algunas sales, oligoelementos y agua. Todos los medios de cultivo han de cumplir como mínimo con estos requisitos pero en muchas ocasiones se necesitan además otras sustancias adicionales como vitaminas, factores o aminoácidos esenciales.¹⁹
- Pruebas bioquímicas. Las pruebas bioquímicas permiten determinar las características metabólicas de las bacterias objeto de investigación. Algunas de estas pruebas son técnicas rápidas ya que evalúan la presencia de una enzima preformada y su lectura varía entre unos segundos hasta pocas horas. Otras pruebas requieren para su lectura el crecimiento del microorganismo con una incubación previa de 18 a 24 horas.²⁰
- Prueba de la catalasa: Sirve para separar el género *Staphylococcus* que es catalasa positiva de *Streptococcus*. (Ver figura 7)
- Prueba de la coagulasa: Sirve para diferenciar *Staphylococcus aureus* que es coagulasa positiva de otras especies de *Staphylococcus*. (Ver figura 8)
- Prueba de la oxidasa: Sirve para separar el género *Pseudomonas* sp. que es oxidasa positiva de las enterobacterias.²¹

3.8 BACTERIAS NOSOCOMIALES

Entre los agentes etiológicos bacterianos que con mayor frecuencia causan infecciones nosocomiales y que a su vez son los más estudiados se encuentran.²²

3.8.1 *Staphylococcus aureus*

CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Reino: Bacteria

Filo: Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Bacillales

Familia: Staphylococcaceae

Género: *Staphylococcus*

Especie: *aureus*

Generalidades

El *Staphylococcus* es uno de los microorganismos que produce con frecuencia infecciones en la comunidad así como intrahospitalaria. En la tinción Gram se observan como cocos Grampositivos que tienden a agruparse en racimos. Crece adecuadamente en agar sangre de carnero al 5% a una temperatura de 37°C y es coagulasa positivo.

Patogenia

Produce infecciones puede colonizar piel y mucosa en los adultos y niños sanos en un 30-50%, encontrándose reportados en niños con trastornos descamativos de la piel y quemaduras, causando enfermedades como forúnculos y mastoiditis. Factores predisponente como son estancia intrahospitalaria, enfermedad pulmonar crónica.

Pruebas de laboratorio

Morfología y tinción Gram: donde se observan cocos en racimos, Gram positivos.

Cultivos: el medio de cultivo que favorecen el crecimiento de los cocos son agar sangre de carnero al 5%, agar chocolate crece de 18-24 horas de incubación a una temperatura de 37°C.

En agar sangre de carnero al 5% *Staphylococcus aureus* presenta beta hemolisis así como pigmento amarillo característico. Pruebas presuntivas: catalasa positiva y coagulasa positiva.

3.8.2 *Staphylococcus epidermidis*

CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Reino: Bacteria

Filo: Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Bacillales

Familia: Staphylococcaceae

Género: *Staphylococcus*

Especie: *epidermidis*

Generalidades

Es un coco Grampositivo coagulasa negativo que es una parte de nuestra flora normal, no móvil crecen en agar sangre de carnero al 5% es anaerobio facultativo.²³

Patogenia

Es patógeno oportunista, ya que requiere una violación importante en las defensas innatas del huésped. Es uno de los principales patógenos de las infecciones nosocomiales, particularmente asociados con las infecciones de cuerpo extraño. Se producen comúnmente en prótesis articulares, catéteres y grandes heridas.

Pruebas de laboratorio

Se clasifica como catalasa positivo, coagulasa negativo puede crecer mediante la respiración aeróbica o por fermentación. Es positivo para la producción de ureasa, y se puede utilizar la glucosa, sacarosa y lactosa para formar productos ácidos.

3.8.3 *Pseudomonas aeruginosa*

CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Reino: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Gamma proteobacteria

Orden: Pseudomonadaceae

Género: *Pseudomonas*.

Especie: *aeruginosa*

Generalidades

Es un bacilo aerobio Gramnegativo, no fermentador, no productor de esporas, móvil con flagelo polar único, producen pigmento soluble como la piocianina (azul) el cual le confiere el color característico la pus producida por esta bacteria; fluoresceína (amarillo) y piorrubina (marrón).²⁴

Patogenia

Este germen está presente en una gran variedad de ambientes, especialmente en superficies húmedas. Su aislamiento en ambientes hospitalario constituyen un 75% de aislamiento de importancia en infecciones nosocomiales, causando un 8% de infecciones de herida operatoria y neumonía.

Pruebas de laboratorio

Crece rápidamente en medios comunes como agar sangre y agar MacConkey, en incubación aerobia, colonias dispersas en aislamiento natural, grande de apariencia elevada y bordes planos de apariencia mucosoide, opacas y viscosas (Ver figura 9-A), oxidasa positiva. Pruebas bioquímicas (Ver figura 9-B).

3.8.4 *Escherichia coli*

CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Reino: Bacteria

Filo: Proteo bacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: *Escherichia*

Especie: *coli*

Generalidades

Son bacilos aerobio gramnegativo anaerobio facultativo, oxidasa negativa, con fermentación variable de la lactosa cada grupo tiene factores de virulencia específico para identificación y clasificación así como diferentes serotipos/serogrupos basados en los antígenos O y H.

Patogenia

Causan infecciones intestinales y extra intestinales generalmente graves, tales como infecciones del aparato excretor, vías urinarias, cistitis, Uretritis, meningitis, peritonitis, mastitis, septicemia y neumonía Gram-negativa.

Pruebas de laboratorio

- Morfología y tinción Gram: Se observan bacilos Gramnegativos móviles por flagelos periticos se presenta solo en pares, en cadenas cortas o formando grupos.
- Cultivo: crecen en medios diferenciales sus características típicas son: Lactosa positiva, presenta colonias circulares, lisas, puntiformes, secas (Ver figura 10-A).
- Pruebas Bioquímicas. (Ver figura 10-B)

3.8.6 *Klebsiella pneumoniae*

CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Reino: Bacterias

Phylum: Proteobacteria

Clase: Gamma proteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: Klebsiella

Especie: pneumoniae

Generalidades

Son bacilos Gramnegativos, anaerobio facultativo, encontrados en la flora normal de la boca, piel e intestino, es la especie de mayor relevancia clínica dentro del género bacteriano, *Klebsiella* de la familia enterobacteriaceae que desempeña un importante papel como causas de las enfermedades infecciosas oportunistas.²⁵

Patogenia

Es un patógeno oportunista en personas inmunocomprometidas en infecciones nosocomiales de la zona urinaria y heridas, seguidas por el contacto con los instrumentos contaminados. Los miembros del género de *Klebsiella* expresan típicamente dos tipos de antígeno en su superficie celular. El primer antígeno “O” es un polisacárido del cual existen 77 variedades. El segundo antígeno K es un polisacárido capsular. Ambos contribuyen a la patogenicidad de esta bacteria.

Pruebas de laboratorio

Morfología y tinción Gram: se observan bacilos Gramnegativos.

Cultivo: las muestras se siembran en medios selectivos y medios diferenciales y sus características son las siguientes: Lactosa positiva, presentan colonias grandes y mucoides (Ver figura 11-A). Pruebas Bioquímicas. (Ver figura 11-B).

3.8.7 *Proteus mirabilis*

CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Dominio: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: *Proteus*

Especie: *mirabilis*

Generalidades

Es parte de la familia Enterobacteriaceae, es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo. Su capacidad de fermentar la maltosa y su incapacidad de fermentar la lactosa tiene la capacidad para alargarse y secretar un polisacárido al entrar en contacto con superficie sólida, por lo que es extremadamente móvil en artículos tales como equipo médico, la ureasa es importante para *Proteus*, es la responsable de la elevación del pH para su rápida proliferación.²⁶

Patogenia

Proteus mirabilis puede entrar al torrente sanguíneo a través de heridas. Esto sucede en el contacto entre la herida y una superficie infectada, las bacterias producen la respuesta inflamatoria que pueden causar sepsis y síndrome de respuesta inflamatoria sistémica.

Pruebas de laboratorio

Puede evidenciarse en medios nutritivos como agar sangre de carnero al 5% formando una serie de olas alrededor de las colonias bacterianas y esta se desplaza de forma radial, a este fenómeno se le llama efecto de swarming el cual es característico de *Proteus*, son colonias medianas, convexas, blanquecinas o traslucidas, forma circular, borde redondeado (Ver figura 12-A). Pruebas bioquímicas. (Ver figura 12-B)

3.8.8 *Bacillus subtilis*

CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Dominio: Bacteria

Filo: Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Bacillales

Familia: Bacillaceae

Género: *Bacillus*

Especie: *subtilis*

Generalidades

Es un bacilo Grampositivo con 10µm de largo, tiene la capacidad de formar una endospora resistente, permitiendo que el organismo tolere condiciones ambientales extremas tales como: calor, ácido y sal, puede persistir en el ambiente por periodos de tiempo largo.

Patogenia

Es considerado como un microorganismo no patógeno, encontrado normalmente en el suelo, se le ha ligado a enfermedades alimentarias.

Pruebas de laboratorio

Morfología y tinción Gram: se observan bacilos rectos en formas de bastón Grampositivos, en cultivo crecen con facilidad en la mayoría de medios bacteriológicos, sus características de las colonias son: Cremosa, irregulares, elevadas y circulares

4.0 SISTEMA DE HIPÓTESIS

4.1 HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN

Hi₁: Se aíslan e identifican bacterias en el ambiente de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, Departamento de La Unión.

Hi₂: Se aíslan e identifican bacterias en las superficies de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, Departamento de La Unión.

Ho₁: No se aíslan e identifican bacterias en el ambiente de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, Departamento de La Unión.

Ho₂: No se aíslan e identifican bacterias en las superficies de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, Departamento de La Unión.

4.2 UNIDAD DE ANÁLISIS:

Ambiente y superficies de las salas de operaciones.

4.3 VARIABLES:

Aislamiento e identificación de bacterias en el ambiente.

Aislamiento e identificación de bacterias en superficies.

4.3 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

HIPÓTESIS	VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES
<p>Hi₁: Se aíslan e identifican bacterias en el ambiente de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, Departamento de La Unión.</p>	<p>Aislamiento e identificación de bacterias en el ambiente</p>	<p>Las bacterias son microorganismos unicelulares de tipo procariótico.</p> <p>Las condiciones del ambiente donde se llevan a cabo los procedimientos quirúrgicos deben cumplir con una temperatura entre 20° a 23°C y el aire debe ingresar en la parte alta de la sala de operación y debe contar con una salida en el nivel inferior del mismo.</p>	<p>Presencia o ausencia de bacterias</p>	<p>Se tomaron las muestras dejando las placas abiertas de Agar Tripticasa Soya</p> <p>Tinción de Gram</p> <p>Agar Sangre de Carnero al 5%.</p>	<p>Características microscópicas</p> <p>Bacilos Grampositivos y Gramnegativos Cocos Grampositivos</p> <p>Características de las colonias en TSA</p> <p>Staphylococcus sp. : presentan colonias pequeñas de color amarillo o grisácea</p> <p>Enterobacterias: presentan colonias gris mate, mucoides.</p>

				<p>Prueba de la Oxidasa.</p> <p>Prueba de la Catalasa</p> <p>Resultados obtenidos mediante las pruebas bioquímicas</p>	<p>Positivo: Color púrpura Negativo: Incolora</p> <p>Positivo: Formación de burbujas Negativo: No hay formación de burbujas</p> <p>Pruebas Bioquímicas</p>																																												
<table border="1"> <thead> <tr> <th>BACTERIA</th> <th>TSI</th> <th>GAS</th> <th>H2S</th> <th>UREA</th> <th>CITRATO</th> <th>INDOL</th> <th>R-M</th> <th>MOV</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><i>Escherichia coli</i></td> <td>A/A</td> <td>±/-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td><i>Klebsiella pneumoniae</i></td> <td>A/A</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td><i>Proteus mirabilis</i></td> <td>K/A</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>±/-</td> <td>-</td> <td>±/-</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td><i>Pseudomonas aeruginosa</i></td> <td>K/K</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table>					BACTERIA	TSI	GAS	H2S	UREA	CITRATO	INDOL	R-M	MOV	<i>Escherichia coli</i>	A/A	±/-	-	-	-	+	+	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	A/A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Proteus mirabilis</i>	K/A	+	+	+	±/-	-	±/-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	K/K	-	-	-	+	-	-	-
BACTERIA	TSI	GAS	H2S	UREA	CITRATO	INDOL	R-M	MOV																																									
<i>Escherichia coli</i>	A/A	±/-	-	-	-	+	+	-																																									
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	A/A	+	-	-	+	-	+	-																																									
<i>Proteus mirabilis</i>	K/A	+	+	+	±/-	-	±/-	+																																									
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	K/K	-	-	-	+	-	-	-																																									

HIPÓTESIS	VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES
H ₁₂ : Se aíslan e identifican bacterias en las superficies de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, Departamento de La Unión.	Aislamiento e identificación de bacterias en las superficies	Las bacterias son microorganismos unicelulares de tipo procariótico que se aíslan de las superficies (mesa quirúrgica, mesa circular, lámparas y grifo) de las salas de operaciones.	Presencia o ausencia de bacterias. Superficies las cuales se dividieron en: Área física, utensilios, recursos utilizados por el personal y recursos utilizados para el paciente.	Toma de muestras con la técnica del hisopado de las superficies Tinción Gram Agar Sangre de Carnero al 5%.	Características microscópicas Bacilo Grampositivo y Gramnegativo Coco Grampositivo Características de las colonias Staphylococcus sp : presentan colonias pequeñas de color amarillo o grisácea Enterobacterias: presentan colonias gris mate, mucoides. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : presenta colonias grandes.

				<p>Agar MacConkey.</p> <p>Inoculación en Caldo Trypticase Soya.</p> <p>Prueba de la Oxidasa.</p>	<p>Enterobacterias: presentan colonias lactosa positiva y lactosa negativa.</p> <p>Algunas bacterias presentan colonias mucosas ejemplo: <i>Klebsiella</i></p> <p><i>Pseudomonas aeruginosa:</i> presenta colonias incoloras, pequeñas y secas</p> <p>Turbidez</p> <p>Positiva: color púrpura Negativo: Incolora</p>
--	--	--	--	--	--

				<p>Prueba de la Catalasa</p> <p>Prueba de la Coagulasa</p> <p>Resultados obtenidos mediante las pruebas bioquímicas</p>	<p>Positivo: Formación de burbujas Negativo: No hay formación de burbujas</p> <p>Positivo: Formación de coagulo Negativo: No hay formación de coagulo.</p> <p>Pruebas bioquímicas</p>																																												
<table border="1"> <thead> <tr> <th>BACTERIA</th> <th>TSI</th> <th>GAS</th> <th>H2S</th> <th>UREA</th> <th>CITRATO</th> <th>INDOL</th> <th>R-M</th> <th>MOV</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><i>Escherichia coli</i></td> <td>A/A</td> <td>+/-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td><i>Klebsiella pneumoniae</i></td> <td>A/A</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td><i>Proteus mirabilis</i></td> <td>K/A</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+/-</td> <td>-</td> <td>+/-</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td><i>Pseudomonas aeruginosa</i></td> <td>K/K</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table>					BACTERIA	TSI	GAS	H2S	UREA	CITRATO	INDOL	R-M	MOV	<i>Escherichia coli</i>	A/A	+/-	-	-	-	+	+	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	A/A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Proteus mirabilis</i>	K/A	+	+	+	+/-	-	+/-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	K/K	-	-	-	+	-	-	-
BACTERIA	TSI	GAS	H2S	UREA	CITRATO	INDOL	R-M	MOV																																									
<i>Escherichia coli</i>	A/A	+/-	-	-	-	+	+	-																																									
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	A/A	+	-	-	+	-	+	-																																									
<i>Proteus mirabilis</i>	K/A	+	+	+	+/-	-	+/-	+																																									
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	K/K	-	-	-	+	-	-	-																																									

5.0 DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Según el tiempo de ocurrencia de los hechos y registro de la información, la investigación fue:

PROSPECTIVA: Porque se realizaron en el tiempo que se diseñó el trabajo de investigación, pero los datos se analizaron durante el tiempo de ejecución.

Según el período y secuencia del estudio:

TRANSVERSAL: Porque se realizó en un período corto de junio a julio de 2015, sin ningún seguimiento posterior.

5.2 SEGÚN EL ANÁLISIS Y ALCANCE DE LOS RESULTADOS, LA INVESTIGACIÓN FUE:

DESCRIPTIVA: Porque la investigación se basó en el aislamiento e identificación o no de bacterias en el ambiente y superficies de las salas de operaciones.

DE LABORATORIO: Porque las muestras que se tomaron fueron procesadas en el laboratorio de Microbiología de la Facultad Multidisciplinaria Oriental.

5.3 SEGÚN LA FUENTE DE INFORMACIÓN FUE:

DOCUMENTAL: Porque se hizo uso de textos, manuales, folletos, tesis, sitios de internet y otros.

5.4 UNIVERSO:

Porque se tomaron 16 muestras del ambiente y 98 muestras de las superficies de las dos salas de operaciones.

5.5 CRITERIOS PARA SELECCIONAR LA MUESTRA

5.5.1 Criterios de Inclusión:

Muestras tomadas del ambiente y superficies de las dos salas de operaciones antes y después de la desinfección.

5.5.2 Criterios de Exclusión:

Muestras tomadas del ambiente y superficies, de otras áreas del hospital que no pertenecen al estudio.

5.6 TÉCNICAS DE LABORATORIO:

Las técnicas de laboratorios que se utilizaron en la investigación y que sirvieron para lograr los objetivos planteados, fueron los siguientes:

- ✓ Técnica de toma de muestras.
- ✓ Técnica de inoculación.
- ✓ Técnicas de siembra y resiembra. (Ver figura 13)
- ✓ Técnica de coloración de Gram.
- ✓ Prueba de la Catalasa. (Ver anexo 3)
- ✓ Prueba de la Oxidasa. (Ver anexo 4)
- ✓ Prueba de la Coagulasa (Ver anexo 5)
- ✓ Pruebas Bioquímicas (Ver anexo 6)

5.7 EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVO

5.7.1 EQUIPO:

- ✓ Microscopio
- ✓ Refrigerador
- ✓ Autoclave
- ✓ Balanza Granataria
- ✓ Estufa
- ✓ Mechero Bunsen

5.7.2 MATERIAL:

- ✓ Hisopos
- ✓ Guantes
- ✓ Cinta Testigo
- ✓ Algodón
- ✓ Tubos de Ensayo 12x16mm
- ✓ Tirro
- ✓ Láminas 76x26mm
- ✓ Tubos con Tapón de Roscas 13x100mm
- ✓ Goteros
- ✓ Papel Filtro
- ✓ Fósforos
- ✓ Placas de Petri
- ✓ Asa Bacteriológica en Punta y en Argolla de 5mm
- ✓ Lápiz Graso
- ✓ Erlenmeyer de 200, 250 y 500 ml
- ✓ Mechero
- ✓ Gradillas

5.7.3 REACTIVOS:

- ✓ Reactivos de Erlich
- ✓ Fenol al 6%
- ✓ Reactivo de Rojo de Metilo
- ✓ Disco de Papel con Tetrametil- Para difenilamina
- ✓ Peróxido de Hidrógeno 3%
- ✓ Plasma de conejo o de humano citratado
- ✓ Colorante Cristal Violeta
- ✓ Lugol
- ✓ Alcohol Acetona
- ✓ Safranina
- ✓ Solución Salina 0.85%
- ✓ Agua Destilada.
- ✓ Medios de Cultivo como:

Medios Sólidos:

- ✓ Agar Sangre de Carnero al 5%
- ✓ Agar MacConkey
- ✓ Agar Tres Azucres y Hierro (TSI)
- ✓ Agar Citrato de Simmons
- ✓ Agar Urea

Medios Semisólidos:

- ✓ Amies
- ✓ Movilidad

Medios Líquidos:

- ✓ Caldo de Rojo de Metilo
- ✓ Caldo de Tripticasa Soya

5.8 PROCEDIMIENTO

El procedimiento para desarrollar la investigación se dividió en dos etapas Planificación y Ejecución.

5.8.1 PLANIFICACIÓN

Se inició con la elección del tema con la ayuda del docente asesor, seguidamente se estableció coordinación con el director del Hospital Nacional Santa Rosa de Lima para solicitar permiso respectivo para la ejecución de la investigación el cual fue autorizado. Cada viernes se realizaron reuniones en la Universidad en las cuales se impartieron las instrucciones y capacitaciones necesarias para realizar el estudio. Posteriormente se buscó información relacionada con el tema para la elaboración del perfil de investigación; de esta manera se elaboraron los antecedentes del estudio, el planteamiento del problema, enunciado del problema, la justificación y los objetivos de la investigación. Para ello se recopiló información a través de libros, tesis y a través de sitios web; para enriquecer el marco teórico se recopiló información a través de las fuentes antes mencionadas, y también se incluyó el diseño metodológico para realizar el estudio, así como también el sistema de hipótesis, el tipo de investigación, métodos y técnicas que se utilizaron para la misma.

5.8.2 EJECUCIÓN

Como primera etapa se realizó una reunión con la licenciada encargada del comité de infecciones nosocomiales del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, para asignar la fecha de capacitación, donde se nos informó el procedimiento y las medidas de bioseguridad a seguir durante la toma de muestra, las cuales constaron de los siguientes pasos: El lavado de manos clínico, colocación y retiro de vestimenta protectora y se asignó la fecha de la toma de muestra.

Posteriormente se procedió a la preparación de los medios de cultivo en el laboratorio “C” de la sección de Biología de la Facultad Multidisciplinaria Oriental, (FMO-UES), los medios que se prepararon fueron Agar MacConkey, Agar Sangre de Carnero al 5 %, Caldo Tripticasa Soya y pruebas bioquímicas (Agar TSI, Agar Citrato de Simmons, medio de Movilidad e Indol, Agar Urea y Caldo Rojo de Metilo). (Ver anexo 7) El día de la toma de muestras el grupo investigador se trasladó al Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, en el cual antes de ingresar a la sala de operaciones se siguieron los siguientes lineamientos:

- Cambio de vestuario apropiado (esterilizado y de sala)
- No se utilizó ningún tipo de prendas (aritos, reloj, uñas acrílicas etc.)
- Se inició con la colocación del gorro, seguido de la camisa, pantalón, y zapateras) (Ver figura 14-A)
- Se realizó el lavado de manos (lavado clínico) (Ver figura 14-B)
- Se colocaron los guantes estériles según técnica (Ver figura 14- C)

Una vez dentro de las salas de operaciones se procedió a la toma de muestra, antes de la desinfección en el ambiente y superficies, para un mejor estudio las superficies se clasificaron de la siguiente manera: área física, utensilios, recursos utilizados por el personal, recursos utilizados para el paciente. Se inició la toma de muestras en la sala de operaciones 1 y 2 en el ambiente dejando placas abiertas incluyendo aire acondicionado parte superior y parte inferior.

Las tomas de muestras de las superficies se realizaron de forma ascendente es decir las que están en contacto directo con el usuario, en los utensilios: Aparato de anestesia máscara, aparato de anestesia mano, aparato de succión, negatoscopio, recursos utilizados por el personal: Mesa mayo, mesa auxiliar, mesa circular, lámpara cielítica 1, lámpara cielítica 2, chorro lavamanos, deposito lavamanos, recursos utilizados para el paciente: Mesa quirúrgica parte superior, mesa quirúrgica parte inferior, cuna radiante. Una vez tomadas las muestras en el primer momento antes de la desinfección el personal encargado de la desinfección realizó el procedimiento en cada una de las salas de operaciones,

al cabo de dos horas se procedió al segundo muestreo realizando los mismo procedimientos en las mismas áreas tomando en cuenta las medidas de bioseguridad en ambas sala de operaciones, cada muestra tomada fue identificada y colocada en el medio de transporte Amies y trasladadas al laboratorio de la sección de Biología de la Facultad Multidisciplinaria Oriental (UES), donde se inoculó con el hisopo en Agar Sangre de Carnero al 5%, Agar MacConkey, Caldo Tripticasa Soya, los cuales se rotularon según las muestras, estos se llevaron a la estufa y se incubaron a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.

Al día siguiente se procedió a la lectura de los medios sólidos que se observó por el crecimiento bacteriano macroscópico, si no se obtuvo crecimiento bacteriano en los medios sólidos, se verificó la turbidez del Caldo Tripticasa Soya. Si se observó turbidez se realizó una resiembra en Agar Sangre de Carnero al 5%, Agar MacConkey, si no se obtuvo turbidez se reincubó por 24 horas más. Una vez obtenido el crecimiento bacteriano solo en Agar Sangre de Carnero al 5% se realizó la prueba de la catalasa para determinar el género ya sea *Streptococcus* sp. y *Staphylococcus* sp. Y al obtener crecimiento en ambas placas como Agar MacConkey y Agar Sangre de Carnero al 5% se realizó la prueba de la oxidasa y después se hizo la siembra en cada una de las pruebas bioquímicas se incubaron a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ (Ver anexo 6) los resultados obtenidos se compararon con la tabla de identificación para determinar la especie de las bacterias aisladas (Ver anexo 8). Todos los resultados obtenidos fueron ordenados en cuadros estadísticos para su posterior tabulación e interpretación de los datos.

5.8.3 PLAN DE ANÁLISIS: Una vez aisladas e identificadas las bacterias las cuales se ingresaron al programa IBM SPSS statistics para elaborar tablas y gráficos para un mejor análisis e interpretación de los resultados.

5.9 RIESGOS Y BENEFICIOS

- ✓ **RIESGOS:** No existió riesgo de contaminación ya que se cumplieron todas las normas de bioseguridad establecidas.
- ✓ **BENEFICIOS:** Se brindó información sobre el aislamiento e identificación de bacterias en el ambiente y superficies de las salas de operaciones.

6.0 PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados de la investigación en el cual se aislaron e identificaron bacterias en ambiente y superficies de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, en el periodo de Junio a Julio de 2015.

El muestreo está constituido por el ambiente y superficies, en el ambiente se incluyó: paredes, puertas y aire acondicionado, las superficies se clasificaron en: utensilios, recursos utilizados por el personal y recursos utilizados por el paciente.

Tabla 1: Distribución de la cantidad de muestras tomadas de las superficies de las salas de operaciones 1 y 2, según ubicación, momento del muestreo y área de trabajo.

			Ubicación							
			Sala de operaciones 1				Sala de operaciones 2			
			Momento de muestreo				Momento de muestreo			
			Antes de la desinfección		Dos horas después de la desinfección		Antes de la desinfección		Dos horas después de la desinfección	
			F	%	F	%	F	%	F	%
Clasificación del área de muestreo	SUPERFICIES	Area física	9	36.0	9	36.0	9	37.5	9	37.5
		Utensilios	4	16.0	4	16.0	4	16.7	4	16.7
		Recursos utilizados por el personal	9	36.0	9	36.0	9	37.5	9	37.5
		Recursos utilizados por el paciente	3	12.0	3	12.0	2	8.3	2	8.3
		TOTAL	25	100	25	100	24	100	24	100

Fuente: Boleta de información muestreo de la sala de operaciones 1 y 2 antes y después de la desinfección

ANÁLISIS:

En la tabla 1 se observa la distribución de las áreas de muestreo las cuales se clasifican en: Área física, utensilios, recursos utilizados por el personal, recursos utilizados para el paciente para cada una de ellas se tomaron muestras en dos momentos: antes de la desinfección y dos horas después de la desinfección.

En la sala de operaciones 1: En la área física se tomaron 9 muestras, en los utensilios 4 muestras, recursos utilizados por el personal 9 muestras, recursos utilizados para el paciente 3 muestras, antes y dos horas después de la desinfección. En la sala de operaciones 2: En el área física se tomaron 9 muestras, en los utensilios 4 muestras, recursos utilizados por el personal 9 muestras, recursos utilizados para el paciente 2 muestras

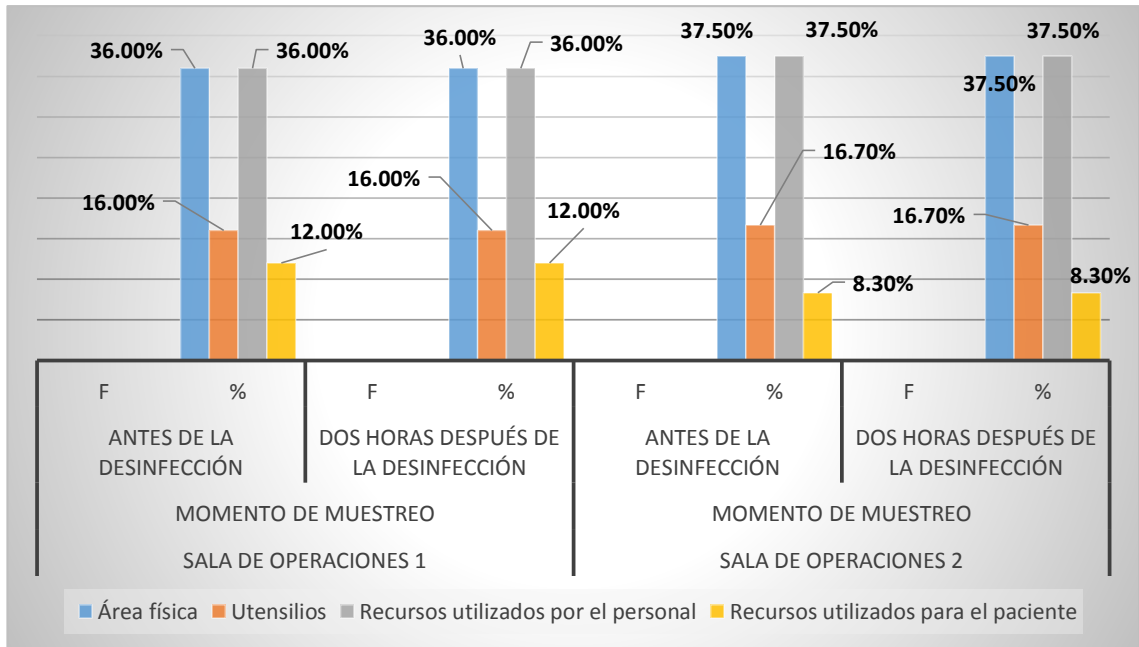
Antes de la desinfección y dos horas después de la desinfección en la sala de operaciones 1 el área física representa el 36.0%, utensilios 16.0%, recursos utilizados por el personal 36.0%, recursos utilizados para el paciente 12.0%.

Antes de las desinfección y dos horas después de la desinfección en la Sala de operaciones 2 el área física representa el 37.50%, utensilios 16.70%, recursos utilizados por el personal 37.5%, recursos utilizados para el paciente 8.3%.

Al final se procesaron 25 áreas antes y dos horas después de la desinfección en la sala de operaciones 1 lo que representa el 100% de las áreas muestreadas.

En la sala de operaciones 2 se procesaron 24 áreas antes y dos horas después de la desinfección lo que constituye el 100% de las áreas muestreadas.

Gráfico 1: Distribución de la toma de muestras de las superficies de las salas de operaciones 1 y 2, según ubicación, momento del muestreo y área de trabajo



Fuente: Tabla 1

INTERPRETACIÓN:

En el gráfico 1 se observa el total de las muestras procesadas en la sala de operaciones 1, antes y dos horas después de la desinfección el área física representa el 36.0%, utensilios 16.0%, recursos utilizados por el personal 36.0%, recursos utilizados para el paciente 12.0%. En la sala de operaciones 2 el área física representa el 37.50%, utensilios 16.70%, recursos utilizados por el personal 37.5%, recursos utilizados para el paciente 8.3%, antes y dos horas después de la desinfección.

Las áreas de muestreo las cuales se clasificaron en orden ascendente desde área física que rodea al personal y al usuario hasta las superficies más manipuladas por el personal y que se encuentran en contacto con el paciente. Dicha clasificación facilitó el procesamiento y la obtención de resultados

confiables en cuanto al aislamiento e identificación de bacterias ya que son áreas donde se realizan procedimientos quirúrgicos y deben cumplir normas de desinfección para evitar infecciones que pueden complicar la salud del usuario.

Tabla 2: Bacterias aisladas en las diferentes tomas de muestras en las superficies en la sala de operaciones 1, según el área de muestreo

	Sala de operaciones 1							
	Clasificación del área de muestreo							
	Superficies							
	Área física		Utensilios		Recursos utilizados por el personal		Recursos utilizados para el paciente	
	F	%	F	%	F	%	F	%
No se aisló bacterias	8	44.5	1	12.5	15	83.3	1	16.7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	22.2	2	25.0	2	11.1	0	0.0
<i>Proteus mirabilis</i>	2	11.1	1	12.5	0	0.0	1	16.7
<i>Escherichia coli</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0	2	33.3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	11.1	2	25.0	1	5.6	2	33.3
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	11.1	2	25.0	0	0.0	0	0.0
Total	18	100	8	100	18	100	6	100

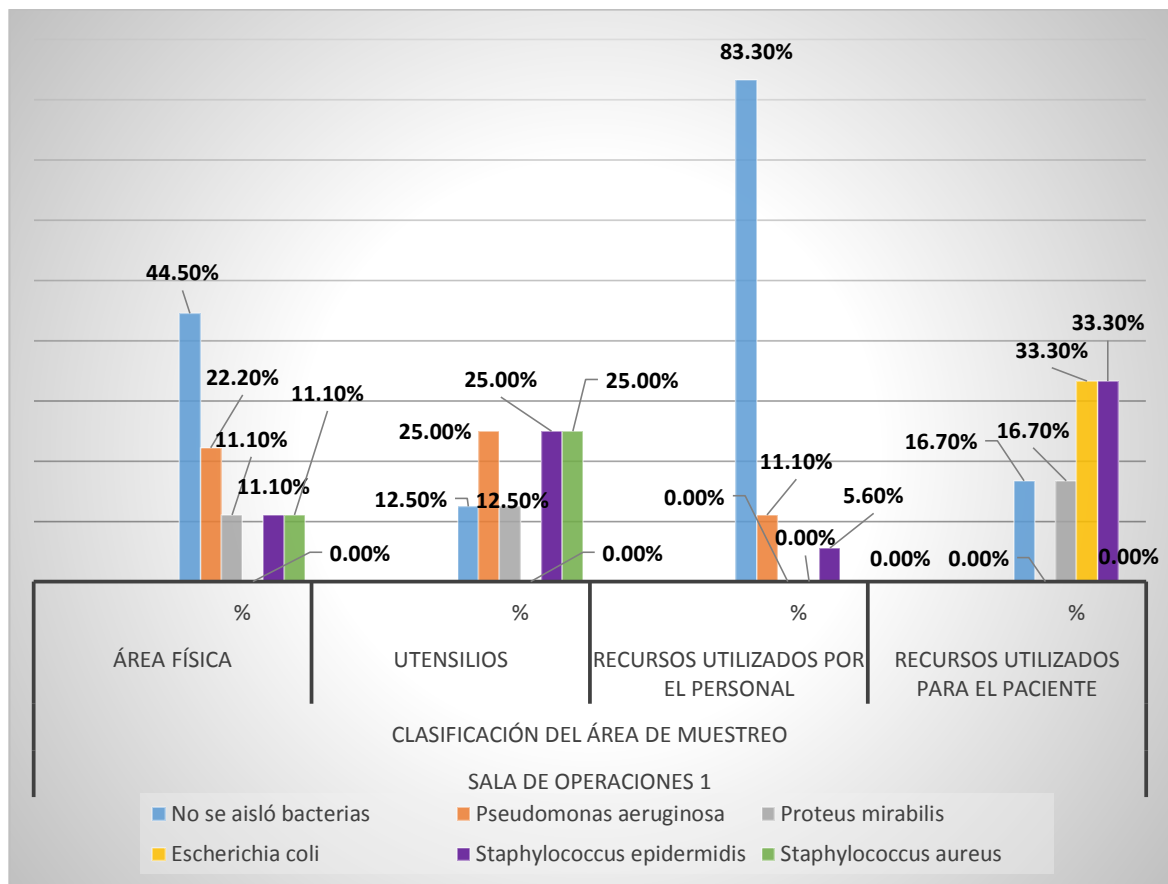
Fuente: Pruebas de laboratorio

ANÁLISIS

En la tabla 2 se representan las bacterias aisladas en las diferentes tomas de muestras según el área de muestreo de la sala de operaciones 1 en el cual se observa que en el área física se obtuvo aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* en un 22.22%, *Proteus mirabilis* 11.10%, *Staphylococcus epidermidis* 11.10%, *Staphylococcus aureus* 11.10% no se aisló bacterias en un 44.50% lo que constituye el 100% del área física. En los utensilios: se aisló *Pseudomonas aeruginosa* en un 25.0%, *Proteus mirabilis* 12.50%, *Staphylococcus epidermidis* 25.0%, *Staphylococcus aureus* 25.0% no se aisló bacterias en un 12.50% lo que

constituye el 100% de los utensilios. Recursos utilizados por el personal: se aisló *Pseudomonas aeruginosa* en un 11.10%, *Staphylococcus epidermidis* 5.6%, no se aisló bacterias en un 83.30% lo que constituye el 100% de los recursos utilizados por el personal. Recursos utilizados para el paciente: se aisló *Proteus mirabilis* 16.70%, *Escherichia coli* 33.33%, *Staphylococcus epidermidis* 33.33%, no se aisló bacterias en un 16.70% lo que constituye el 100% de los recursos utilizados para el paciente.

Gráfico 2: Bacterias aisladas en las diferentes tomas de muestras en las superficies en la sala de operaciones 1, según el área de muestreo



Fuente: Tabla 2

INTERPRETACIÓN:

En el gráfico 2 se observa los resultados de las bacterias aisladas en la diferente toma de muestras según áreas de muestreo de la sala de operaciones 1. Del total de muestras procesadas se aisló del área física *Pseudomonas aeruginosa* en un 22.22%, en los utensilios en un 25.0%, en los recursos utilizados por el personal 11.10%, el cual este microorganismo está presente en una gran variedad de ambientes especialmente en superficies húmedas, aislado mayormente en ambientes hospitalarios. Aislándose en el área física *Proteus mirabilis* 11.10%, utensilios 12.50%, en los recursos utilizados para el paciente 16.70%, este puede entrar en torrente sanguíneo a través de heridas la cual produce respuesta inflamatoria que puede causar sepsis, y síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. *Staphylococcus epidermidis* en el área física en un 11.10%, utensilios 25.0%, recursos utilizados por el personal en un 5.6%, recursos utilizados para el paciente el 33.33%, este microorganismo pertenece a una parte de nuestra flora normal, es un patógeno oportunista. También se aisló a *Staphylococcus aureus* en un 11.10% en área física, en los utensilios en un 25.0%, en el cual este microorganismo es predisponente en estancias hospitalarias. Se aisló *Escherichia coli* en los recursos utilizados para el paciente en un 33.30%, el cual es causante de infecciones en las vía urinarias, meningitis en el neonatos e infecciones respiratorias.

Tabla 3: Bacterias aisladas en las diferentes tomas de muestras en las superficies en la sala de operaciones 2, según el área de muestreo

	Sala de operaciones 2							
	Clasificación del área de muestreo							
	SUPERFICIES							
	Área física		Utensilios		Recursos utilizados por el personal		Recursos utilizados para el paciente	
	F	%	F	%	F	%	F	%
No se aisló bacterias	9	50.0	3	37.5	15	83.3	1	25.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	22.2	2	25.0	2	11.1	0	0.0
<i>Proteus mirabilis</i>	2	11.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Escherichia coli</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	0.0	2	25.0	0	0.0	2	50.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	16.7	1	12.5	1	5.6	1	25.0
Total	18	100	8	100	18	100	4	100

Fuente: Pruebas de laboratorio

ANÁLISIS

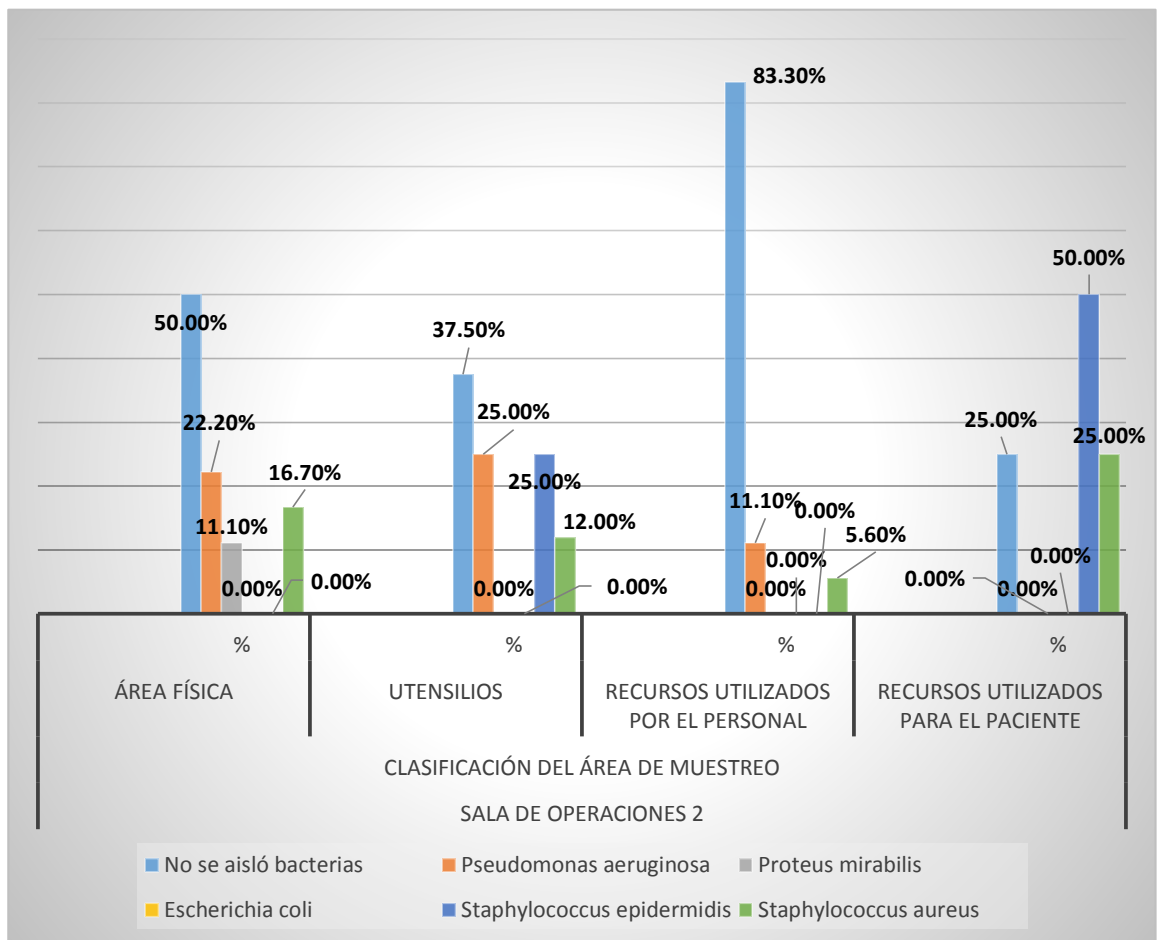
En la tabla 3 se representan las bacterias aisladas en las diferentes tomas de muestras según el área de muestreo de la sala de operaciones 2 en el cual se observa que en el área física se obtuvo aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* en un 22.22%, *Proteus mirabilis* 11.10%, *Staphylococcus aureus* 16.70% no se aisló bacterias en un 50.0% lo que constituye el 100% del área física.

En los utensilios: se aisló *Pseudomonas aeruginosa* en un 25.0%, *Staphylococcus epidermidis* 25.0%, *Staphylococcus aureus* 12.50% no se aisló bacterias en un 37.50% lo que constituye el 100% de los utensilios.

Recursos utilizados por el personal: se aisló *Pseudomonas aeruginosa* en un 11.10%, *Staphylococcus aureus* 5.6%, no se aisló bacterias en un 83.30% lo que constituye el 100% de los recursos utilizados por el personal.

Recursos utilizados para el paciente: se aisló *Staphylococcus epidermidis* 50.0%, *Staphylococcus aureus* 25.0%, no se aisló bacterias en un 25.0% lo que constituye el 100% de los recursos utilizados para el paciente.

Grafico 3: Bacterias aisladas en las diferentes tomas de muestras en las superficies en la sala de operaciones 2, según el área de muestreo



Fuente: Tabla 3

INTERPRETACIÓN

En el gráfico 3 se observa los resultados de las bacterias aisladas en la diferente toma de muestras según áreas de muestreo de la sala de operaciones 1. En el total de muestras procesadas se aisló del área física *Pseudomonas aeruginosa* en un 22.22%, en los utensilios en un 25.0%, en los recursos utilizados por el personal 11.10%, el cual este microorganismo causa infecciones en heridas operatorias. Se aisló en el área física *Proteus mirabilis* 11.10%, esta bacteria causa infecciones en las vías urinarias y neumonía intrahospitalaria. *Staphylococcus epidermidis* utensilios 25.0%, recursos utilizados para el paciente el 50.0%, este microorganismo es uno de los principales patógenos de las infecciones de cuerpos extraños como catéteres y grandes heridas. Se aisló a *Staphylococcus aureus* en un 16.70% en área física, en los utensilios en un 12.50%, recursos utilizados por el personal 5.6%, recursos utilizados para el paciente 25.0% esta bacteria causa foliculitis, conjuntivitis, abscesos profundos y es un predisponente de infecciones nosocomiales. Cabe mencionar que tanto el personal que labora dentro de las salas de operaciones como el paciente que son atendidos en dicha sala se verán afectados por la contaminación bacteriana en las diferentes áreas de muestreo.

Tabla 4: Comparación de los resultados del aislamiento de bacterias en las superficies de las salas de operaciones 1 y 2, según el área de muestreo

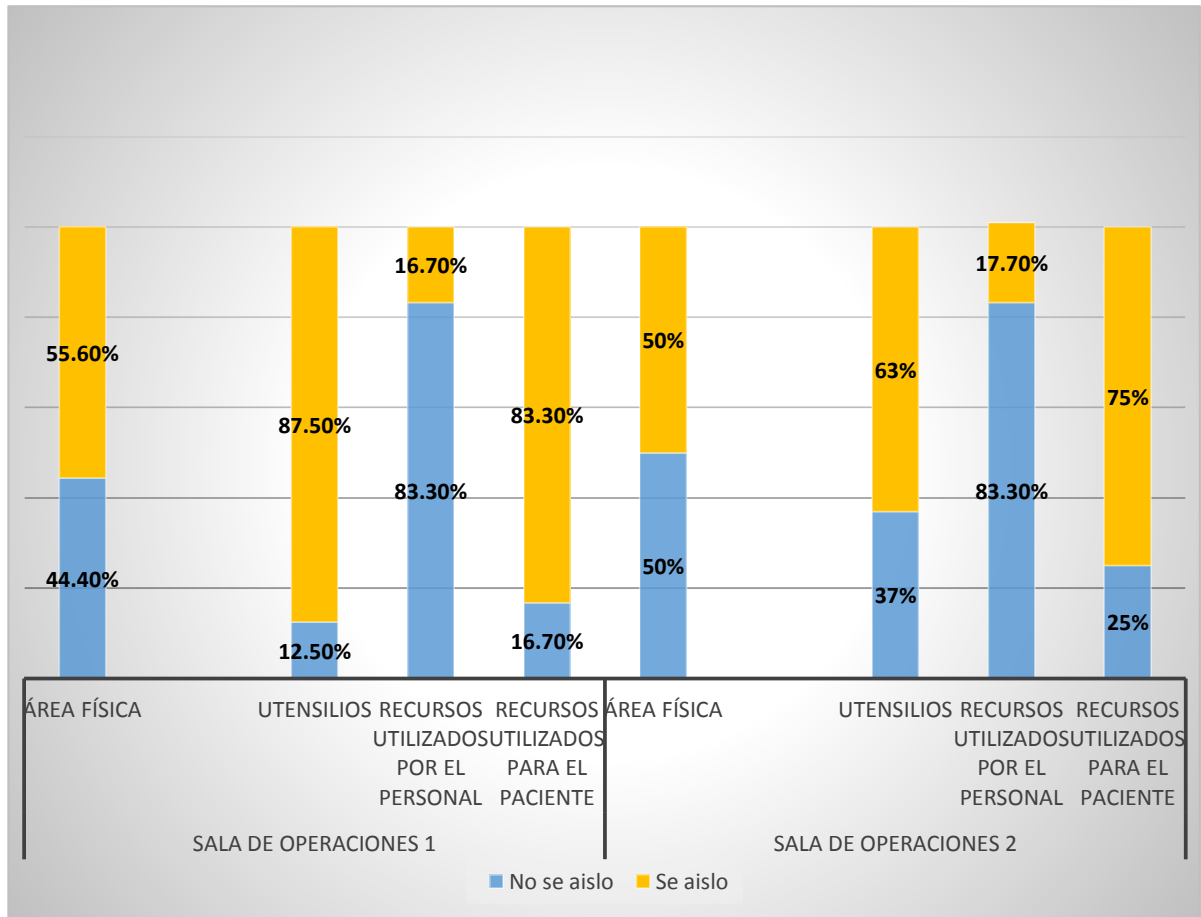
		Área de muestreo	No se aisló	Se aisló	Total
		Área física	44.40%	55.60%	100%
Sala de operaciones 1	Superficies	Utensilios	12.50%	87.50%	100%
		Recursos utilizados por el personal	83.30%	16.70%	100%
		Recursos utilizados para el paciente	16.70%	83.30%	100%
		Área física	50%	50%	100%
Sala de operaciones 2	Superficies	Utensilios	37%	63%	100%
		Recursos utilizados por el personal	83.30%	16.70%	100%
		Recursos utilizados para el paciente	25%	75%	100%

Fuente: Pruebas de laboratorio

ANÁLISIS:

Las salas de operaciones 1 y 2 se dividieron en área física, utensilios, recursos utilizados por el personal y recursos utilizados para el paciente; con sus porcentajes de aislamiento bacteriano al igual que su porcentaje de ausencia bacteriana. En cuanto al aislamiento bacteriano se obtuvieron los siguientes resultados, para las salas de operaciones 1 y 2 respectivamente: en el área física 55.60% y 50%, utensilios 87.50% y 63%, recursos utilizados por el personal 16.70% y 6.70%, recursos utilizados para el paciente 83.30% y 75%; en la ausencia de crecimiento bacteriano se obtuvieron los siguientes resultados para las salas de operaciones 1 y 2 respectivamente: área física 44.40% y 50%, utensilios 83.30% y 37%, recursos utilizados por el personal 83.30% y 83.30%, recursos utilizados para el paciente 16.70% y 25%.

Gráfico 4: Comparación de los resultados del aislamiento de bacterias en las superficies de las salas de operaciones 1 y 2, según el área de muestreo



Fuente: Tabla 4

INTERPRETACIÓN:

Según se muestra en el gráfico 4 en el área física se obtuvo un aislamiento bacteriano el 55.60% para la sala de operaciones 1, 50% para la sala de operaciones 2, en los utensilios un 87.50% en sala de operaciones 1 y el 63% en la sala de operaciones 2, en los recursos utilizados por el personal se aisló un 16.70% en la sala de operaciones 1 y el 17.70% en la sala de operaciones 2, en los recursos utilizados para el paciente un 83.30% en la sala de operaciones 1 y el 75% en la sala de operaciones 2, lo cual representa un porcentaje alto de contaminación del área física y de los utensilios, recursos utilizados por el

personal, recursos utilizados para el paciente, de ambas salas de operaciones lo que pone en evidencia que la desinfección aplicada en estas áreas no es eficaz, por lo que el área física, utensilios, recursos utilizados por el personal, recursos utilizados para el paciente, no son indicadas para realizar intervenciones quirúrgicas debido a la presencia bacteriana en dichas áreas ya que pone en riesgo la salud de los usuarios.

Tabla 5: Bacterias aisladas en las muestras de superficies: Área física de la sala de operaciones 1, antes y después de la desinfección

Sala de operaciones 1							
SUPERFICIES	Área física	Antes de la desinfección		Bacteria aislada	Dos horas después de la desinfección		Bacteria aislada
		Si	No		Si	No	
	Pared C	✓		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	✓		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Aire acondicionado parte Superior	✓		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	✓		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Puerta lado D	✓		<i>Proteus mirabilis</i>	✓		<i>Proteus mirabilis</i>
	Puerta lado A	✓		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	✓		<i>Staphylococcus epidermidis</i>
	Pared A	✓		<i>Staphylococcus aureus</i>	✓		<i>Staphylococcus aureus</i>
	Puerta lado B		✓	No se aisló		✓	No se aisló
	Puerta lado C		✓	No se aisló		✓	No se aisló
	Pared B		✓	No se aisló		✓	No se aisló
	Aire Acondicionado parte Inferior		✓	No se aisló		✓	No se aisló

Fuente: Pruebas de laboratorio

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

En la tabla 5 se muestran las bacterias aisladas en las muestras del área física de la sala de operaciones 1 en diferentes momentos dentro de las cuales se aislaron: *Pseudomonas aeruginosa* antes y después de la desinfección de la pared C como del aire acondicionado parte superior, patógeno que infecta los

pulmones, de la puerta D se aisló *Proteus mirabilis*, un bacilo gramnegativo causante de infecciones urinarias, en la puerta lado A, se aisló *Staphylococcus epidermidis* es un coco grampositivo presente frecuentemente en la piel de humanos y en membrana mucosas, en la pared A se aisló *Staphylococcus aureus* uno de los principales causantes de infecciones nosocomiales, produce una gama de infecciones entre las cuales están abscesos profundos y meningitis en muchas ocasiones actúa como un mediador de infecciones nosocomiales, las infecciones adquiridas en estos recintos trae como consecuencias importantes como: Impacto humano, impacto social e impacto económico; la presencia de estas bacterias en el ambiente se deben a que el proceso de desinfección no se realiza correctamente ya sea por falta de capacitación y conocimientos sobre la desinfección por parte del personal que la realiza o por la utilización de productos químicos de desinfección de concentraciones inadecuadas o productos de baja calidad que no garantizan una esterilización eficaz. Las áreas de las cuales no se obtuvo aislamiento bacteriano son: Puerta lado B, puerta lado C, pared B y aire acondicionado parte inferior en ningún momento del muestreo.

Tabla 6: Bacterias aisladas en las muestras de superficies: Utensilios de la sala de operaciones 1, antes y después de la desinfección

SUPERFICIES	Sala de operaciones 1						
	Utensilios	Antes de la desinfección		Bacteria aislada	Después de la desinfección		Bacteria aislada
		Si	No		Si	No	
	Aparato de anestesia (mascara)	✓		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	✓		<i>Staphylococcus epidermidis</i>
	Negatoscopio	✓		<i>Staphylococcus epidermidis</i>		✓	No se aisló
	Aparato de succión	✓		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	✓		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Aparato de anestesia (manual)	✓		<i>Proteus mirabilis</i>		✓	No se aisló

Fuente: Pruebas de laboratorio

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

En la tabla 6 se observan las bacterias aisladas en las muestras de superficies: Utensilios de las salas de operaciones 1 en diferentes momentos, se aíslan los siguientes microorganismos: *Staphylococcus epidermidis* aislado del aparato de anestesia (máscara) en ambos momentos del muestreo, en el negatoscopio se aisló solamente antes de la desinfección *Staphylococcus epidermidis* el cual causa Infecciones y heridas postoperatorias; en el aparato de succión se aisló *Pseudomonas aeruginosa* causante de neumonía se aisló antes y después de la desinfección y en el aparato de anestesia (manual) se aisló *Proteus mirabilis* solamente en el primer momento del muestreo.

Cabe mencionar que *Staphylococcus epidermidis* como *Pseudomonas aeruginosa* bacterias aisladas de la máscara del aparato de anestesia y el aparato de succión respectivamente, utensilios que están en contacto directo con el paciente durante una intervención quirúrgica, lo que pone en riesgo la salud y recuperación del usuario.

Tabla 7: Bacterias aisladas en las muestras de superficies: Recursos utilizados por el personal en la sala de operaciones 1, antes y después de la desinfección

SUPERFICIES	Sala de operaciones 1						
	Recursos utilizados por el personal	Antes de la desinfección		Bacteria aislada	Después de la desinfección		Bacteria aislada
		Si	No		Si	No	
	Mesa Circular	✓		<i>Staphylococcus epidermidis</i>		✓	No se aisló
	Mesa Mayo	✓		<i>Staphylococcus epidermidis</i>		✓	No se aisló
	Lavamanos depósito	✓		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	✓		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Lámpara Cielítica 1 parte interna		✓	No se aisló		✓	No se aisló
	Lámpara Cielítica 1 parte externa		✓	No se aisló		✓	No se aisló
	Lámpara Cielítica 2 parte interna		✓	No se aisló		✓	No se aisló
	Lámpara Cielítica 2 parte externa		✓	No se aisló		✓	No se aisló
	Mesa auxiliar		✓	No se aisló		✓	No se aisló
	Lavamanos chorro		✓	No se aisló		✓	No se aisló

Fuente: Pruebas de laboratorio

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

En la tabla 7 se dan a conocer las bacterias aisladas en las muestras de superficies: Recursos utilizados por el personal de las salas de operaciones 1 en diferentes momentos, los recursos sin aislamiento bacteriano fueron: Lámpara cielítica 1 parte interna, lámpara cielítica 1 parte externa, lámpara cielítica 2 parte interna, lámpara cielítica 2 parte externa, mesa auxiliar y lavamanos chorro.

En los siguientes recursos se obtuvo aislamiento bacteriano: Mesa circular y mesa mayo donde se aisló antes de la desinfección *Staphylococcus epidermidis* el cual provoca infecciones en personas con catéteres u otros implante quirúrgicos lo que representa un amenaza mayor para los usuarios del hospital,

en el lavamanos depósito se aisló *Pseudomonas aeruginosa* en ambos momentos del muestreo, dicho utensilio es utilizado por el personal para realizar el lavado de manos antes de la intervención quirúrgica, y de esta manera el personal sirve como un vehículo de propagación de las bacterias a los usuarios así como también a otras superficies dentro de las salas de operaciones, como consecuencias de una desinfección deficiente.

Tabla 8: Bacterias aisladas en las muestras de superficies: Recursos utilizados para el paciente en la sala de operaciones 1, antes y después de la desinfección

SUPERFICIES	Sala de operaciones 1						
	Recursos utilizados para el paciente	Antes de la desinfección		Bacteria aislada	Después de la desinfección		Bacteria aislada
		Si	No		Si	No	
Mesa quirúrgica parte superior	✓		<i>Proteus mirabilis</i>		✓	No se aisló	
Mesa quirúrgica parte inferior	✓		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	✓		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
Cuna radiante	✓		<i>Escherichia coli</i>	✓		<i>Escherichia coli</i>	

Fuente: Pruebas de laboratorio

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

En la tabla 8 se observan las bacterias aisladas en las muestras de superficies: Recursos utilizados por el usuario de las salas de operaciones 1 en diferentes momentos donde en la mesa quirúrgica parte superior antes de la desinfección se aisló *Proteus mirabilis* y después de la desinfección no se aisló, en la mesa quirúrgica inferior se aisló *Staphylococcus epidermidis* este utensilio debe estar estéril ya que está en contacto con el paciente pudiendo causar enfermedades como cistitis y endocarditis; en la cuna radiante antes y después de la desinfección se aisló *Escherichia coli* siendo esta una bacteria patógena causando fiebres altas, la cual está en contacto directo con el recién nacido el

cual puede aumentar los días de hospitalización debido a complicaciones causadas por la presencia de este microorganismo. La presencia de las bacterias *Staphylococcus epidermidis* y *Escherichia coli* antes y después de la desinfección pone de manifiesto que los procedimientos que se emplean en la desinfección de dichas superficie no cumplen con las normas de esterilización de las salas de operaciones.

Tabla 9: Bacterias aisladas en las muestras de superficies: Área física en la sala de operaciones 2, antes y después de la desinfección

Sala de operaciones 2						
ÁREA FÍSICA	Antes de la desinfección		Bacteria aislada	Después de la desinfección		Bacteria aislada
	Si	No		Si	No	
Puerta lado B	✓		<i>Staphylococcus aureus</i>	✓		<i>Staphylococcus aureus</i>
Pared C	✓		<i>Staphylococcus aureus</i>		✓	No se aisló
Pared B	✓		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	✓		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Aire acondicionado parte superior	✓		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	✓		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Puerta lado D	✓		<i>Proteus mirabilis</i>	✓		<i>Proteus mirabilis</i>
Puerta lado A		✓	No se aisló		✓	No se aisló
Puerta lado C		✓	No se aisló		✓	No se aisló
Pared A		✓	No se aisló		✓	No se aisló
Aire Acondicionado parte inferior		✓	No se aisló		✓	No se aisló

Fuente: Pruebas de laboratorio

ANÁLISIS E INTERPETACIÓN:

En la tabla 9 las bacterias aisladas en el ambiente de las sala de operaciones 2 en la puerta lado B tanto como antes y después de la desinfección se aisló *Staphylococcus aureus* donde se comprueba que no hubo una buena desinfección causando enfermedades como forúnculo y mastoiditis; en la pared C antes de la desinfección se aisló *Staphylococcus aureus* y después de la

desinfección no se aisló comprobando que hubo una buena desinfección, tanto como en la pared B y aire acondicionado parte superior antes y después de la desinfección se aisló *Pseudomonas aeruginosa* el cual está contaminando el ambiente que rodea al usuario ya que esta bacteria nosocomial causa enfermedades como infecciones en la vías urinarias, aumentando los costos hospitalarios, en la puerta lado D antes y después de la desinfección se aisló *Proteus mirabilis*, en la puerta lado A, puerta lado C, pared A, aire acondicionado parte inferior tanto antes y después de la desinfección no se aisló bacteria. Cabe mencionar que los resultados muestran evidencia que se deben verificar paso a paso los procedimientos que se utilizan en la desinfección de las salas de operaciones.

Tabla 10: Bacterias aisladas en las muestras de superficie: Utensilios en la sala de operaciones 2, antes y después de la desinfección

SUPERFICIES	Sala de operaciones 2						
	Utensilios	Antes de la desinfección		Bacteria aislada	Después de la desinfección		Bacteria aislada
		Si	No		Si	No	
Aparato de anestesia (mascara)	✓		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	✓		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
Negatoscopio	✓		<i>Staphylococcus aureus</i>	✓		<i>Staphylococcus aureus</i>	
Aparato de succión	✓		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	✓		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
Aparato de anestesia (manual)		✓	No se aisló		✓	No se aisló	

Fuente: Pruebas de laboratorio

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

En la tabla 10 se representan las bacterias aisladas en las muestras de superficies: utensilios de la sala de operaciones 2 en diferentes momentos en el aparato de anestesia (máscara) tanto como antes y después de la desinfección se aisló *Staphylococcus epidermidis* dicha máscara está en contacto directo con

el paciente lo que puede ocasionar infecciones respiratorias, en el negatoscopio que es un dispositivo diseñado para la observación directa de los estudios impresos en la placa radiológica, se aisló *Staphylococcus aureus* antes y después de la desinfección; en el aparato de succión antes y después de la desinfección se aisló *Pseudomonas aeruginosa*, al aislar dicha bacteria en el aparato de succión se convierte en un vehículo transmisor de neumonía lo que trae complicación al paciente, en el aparato de anestesia (manual) no se aisló bacteria en ningún momento del muestreo. La sala de operaciones 2 es poco utilizada para realizar procedimientos quirúrgicos entre las que se realizan se encuentran cirugías de ortopedia y de esterilización; sin embargo se logró aislar un porcentaje significativo de bacteria lo que pone en riesgo la salud del paciente que es sometido a dichos procedimientos

Tabla 11: Bacterias aisladas en las muestras de superficies: Recursos utilizados por el personal en la sala de operaciones 2, antes y después de la desinfección

SUPERFICIES	Sala de operaciones 2						
	Recursos utilizados por el personal	Antes de la desinfección		Bacteria aislada	Después de la desinfección		Bacteria aislada
		Si	No		Si	No	
	Mesa auxiliar	✓		<i>Staphylococcus aureus</i>		✓	No se aisló
	Lavamanos deposito	✓		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	✓		<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>
	Lámpara Cielítica 1 parte externa		✓	No se aisló		✓	No se aisló
	Lámpara Cielítica 1 parte interna		✓	No se aisló		✓	No se aisló
	Lámpara Cielítica 2 parte externa		✓	No se aisló		✓	No se aisló
	Lámpara Cielítica 2 parte interna		✓	No se aisló		✓	No se aisló
	Mesa circular		✓	No se aisló		✓	No se aisló
	Lavamanos parte del chorro		✓	No se aisló		✓	No se aisló
	Mesa mayo		✓	No se aisló		✓	No se aisló

Fuente: Pruebas de laboratorio

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

En la tabla 11 se observan las bacterias aisladas en las muestras de superficies: recursos utilizados por el personal de la sala de operaciones 2 en diferentes momentos, en la mesa auxiliar antes de la desinfección se aisló *Staphylococcus aureus* y después de la desinfección no se aisló, en el lavamanos depósito tanto antes y después de la desinfección se aisló *Pseudomonas aeruginosa* donde esta superficie debe estar libre de bacterias por ser donde el personal se lava las manos para realizar procedimiento quirúrgico, actuando como un trasmisor de enfermedades para el paciente siendo esta una bacteria nosocomial que

sobrevive en superficies húmedas, siendo el inicio de su infección la pérdida de mecanismos de defensa del huésped aumentado los días de hospitalización y gastos económicos; en la lámpara cielítica 1 parte externa, lámpara cielítica 1 parte interna, lámpara cielítica 2 parte externa, lámpara cielítica 2 parte interna, mesa circular, lavamanos chorros, mesa mayo tanto antes como después de la desinfección no se aisló bacterias.

Tabla 12: Bacterias aisladas en las muestras de superficies: Recursos utilizados para el paciente en la sala de operaciones 2, antes y después de la desinfección

SUPERFICIES	Sala de operaciones 2						
	Recursos utilizados para el paciente	Antes de la desinfección		Bacteria aislada	Después de la desinfección		Bacteria aislada
		Si	No		Si	No	
Mesa quirúrgica parte superior	✓		<i>Staphylococcus aureus</i>		✓	No se aisló	
Mesa quirúrgica parte inferior	✓		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	✓		<i>Staphylococcus Epidermidis</i>	

Fuente: Pruebas de laboratorio

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

La tabla 12 presenta las bacterias aisladas en las muestras de superficies: recursos utilizados por el paciente de la sala de operaciones 2 en diferentes momentos, en la mesa quirúrgica parte superior antes de la desinfección se aisló *Staphylococcus aureus* después de la desinfección no se aisló y en la mesa quirúrgica parte inferior antes y después de la desinfección se aisló *Staphylococcus epidermidis* la cual está en contacto con el usuario lo que puede provocar enfermedades como cistitis y endocarditis, dicha área debería estar estéril.

Tabla 13: Bacterias identificadas antes y después de la desinfección en las salas de operaciones 1 y 2

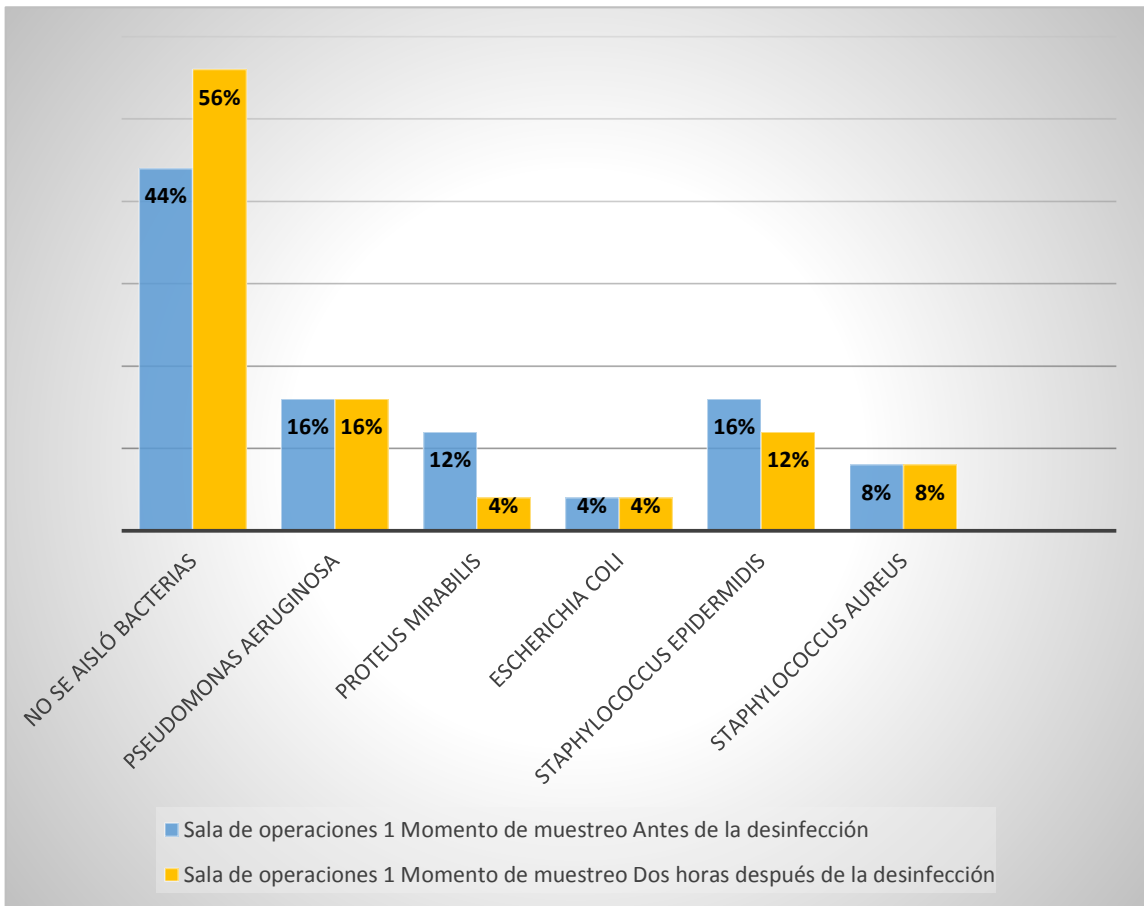
		Ubicación			
		Sala de operaciones 1		Sala de operaciones 2	
		Momento de muestreo		Momento de muestreo	
		Antes de la desinfección	Dos horas después de la desinfección	Antes de la desinfección	Dos horas después de la desinfección
		%	%	%	%
Resultados	No se aisló bacterias	44.0	56.0	54.2	62.5
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16.0	16.0	16.7	16.7
	<i>Proteus mirabilis</i>	12.0	4.0	4.2	4.2
	<i>Escherichia coli</i>	4.0	4.0	0.0	0.0
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	16.0	12.0	8.3	8.3
	<i>Staphylococcus aureus</i>	8.0	8.0	16.7	8.3
	TOTAL	100	100	100	100

Fuente: Pruebas de laboratorio

ANÁLISIS

La tabla 13 representa los resultados de las bacterias aisladas en diferentes momentos de ambas salas de operaciones. En la sala de operaciones 1 se aisló *Pseudomonas aeruginosa* en un 16.0% en ambos momentos, *Proteus mirabilis* 12.0% antes de la desinfección y 4% dos horas después de la desinfección, *Escherichia coli* 4.0% en ambos momentos, *Staphylococcus epidermidis* 16.0% antes de la desinfección y 12.0% dos horas después de la desinfección, *Staphylococcus aureus* 8.0% en diferentes momentos, no se aisló bacterias en un 44.0% antes de la desinfección y 56.0% dos horas después de la desinfección. En la sala de operaciones 2 se aisló *Pseudomonas aeruginosa* en un 16.7% en ambos momentos, *Proteus mirabilis* 4.2% en diferentes momentos, *Staphylococcus epidermidis* 8.3% en ambos momentos, *Staphylococcus aureus* 16.7% antes de la desinfección y 8.3% en diferentes momentos no se aisló bacterias en un 54.2% antes de la desinfección y 62.5% dos horas después de la desinfección.

Gráfico 13.1: Bacterias identificadas antes y después de la desinfección de la sala de operaciones 1

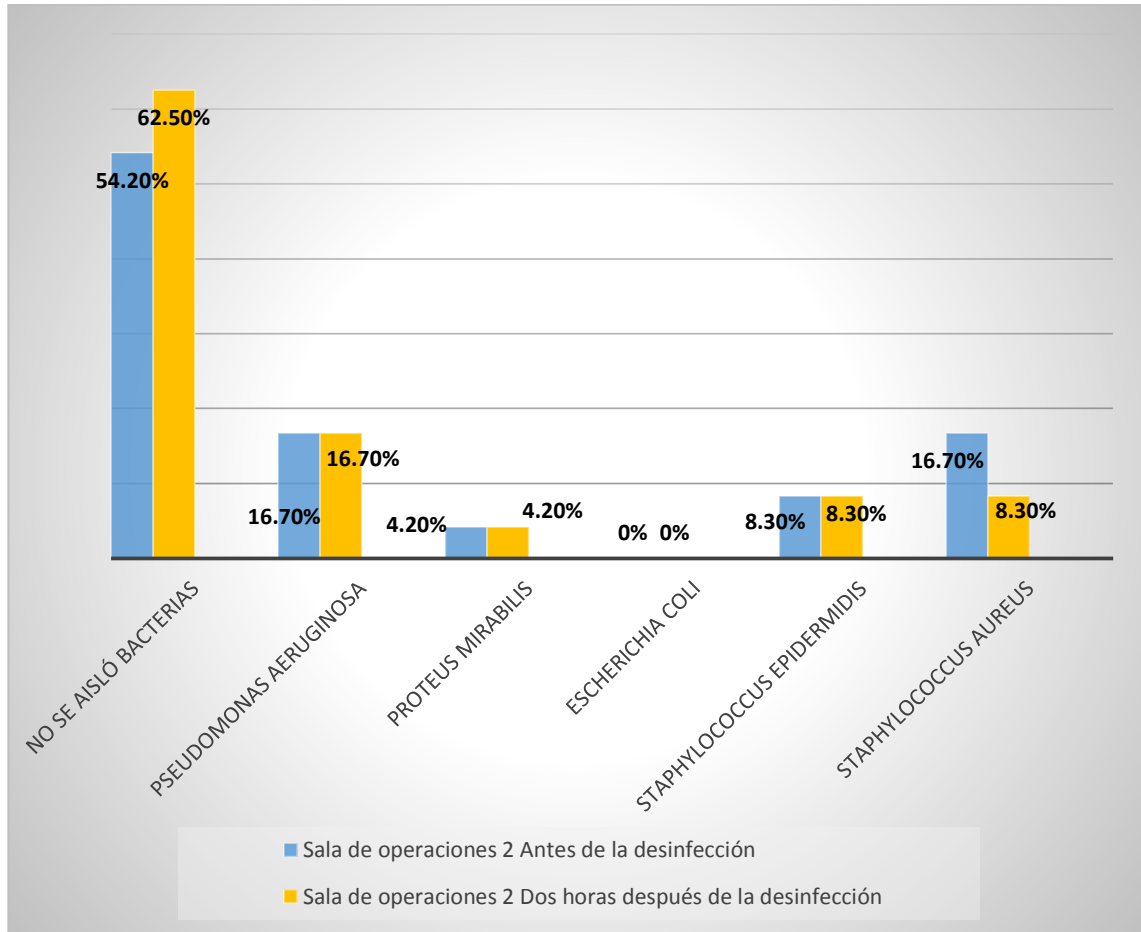


Fuente: Tabla 13

INTERPRETACIÓN

En el gráfico 13.1 se observan los resultados de las bacterias aisladas en diferentes momentos de la sala de operaciones 1. El 44.0% no se aisló bacterias antes de la desinfección, 56.0% dos horas después de la desinfección, se obtuvo el aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* en un 16.0% en ambos momentos, *Proteus mirabilis* 12.0% antes de la desinfección y 4.0% dos horas después de la desinfección, *Escherichia coli* 4.0% en diferentes momentos, *Staphylococcus epidermidis* 16.0% antes de la desinfección, y 12.0% dos horas después de la desinfección, *Staphylococcus aureus* 8.0% en ambos momentos.

Gráfico 13.2: Bacterias identificadas antes y después de la desinfección de la sala de operaciones 2



Fuente: Tabla 13

INTERPRETACIÓN

En el gráfico 13.2 se observan los resultados de las bacterias aisladas en diferentes momentos de la sala de operaciones 2. El 54.2% no se aisló bacterias antes de la desinfección, 62.5% dos horas después de la desinfección, se obtuvo el aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* en un 16.7% en ambos momentos, *Proteus mirabilis* 4.2% en diferentes momentos, *Staphylococcus epidermidis* 8.3% en ambos momentos, *Staphylococcus aureus* 16.7% antes de la desinfección y 8.3% dos horas después de la desinfección. Por lo tanto en la sala

de operaciones 1 se obtuvo un mayor aislamiento bacteriano del ambiente y superficies.

Tabla 14: Bacterias aisladas del ambiente antes y después de la desinfección de las salas de operaciones 1 y 2

	Ubicación			
	Sala de operaciones 1		Sala de operaciones 2	
	Momento de muestreo		Momento de muestreo	
	Antes de la desinfección	Dos horas después de la desinfección	Antes de la desinfección	Dos horas después de la desinfección
No se aisló bacterias	42.0%	53.0%	63.0%	71.0%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35.0%	35.0%	18.0%	15.0%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	13.0%	8.0%	12.0%	10.0%
<i>Staphylococcus aureus</i>	10.0%	4.0%	7.0%	4.0%
TOTAL	100%	100%	100%	100%

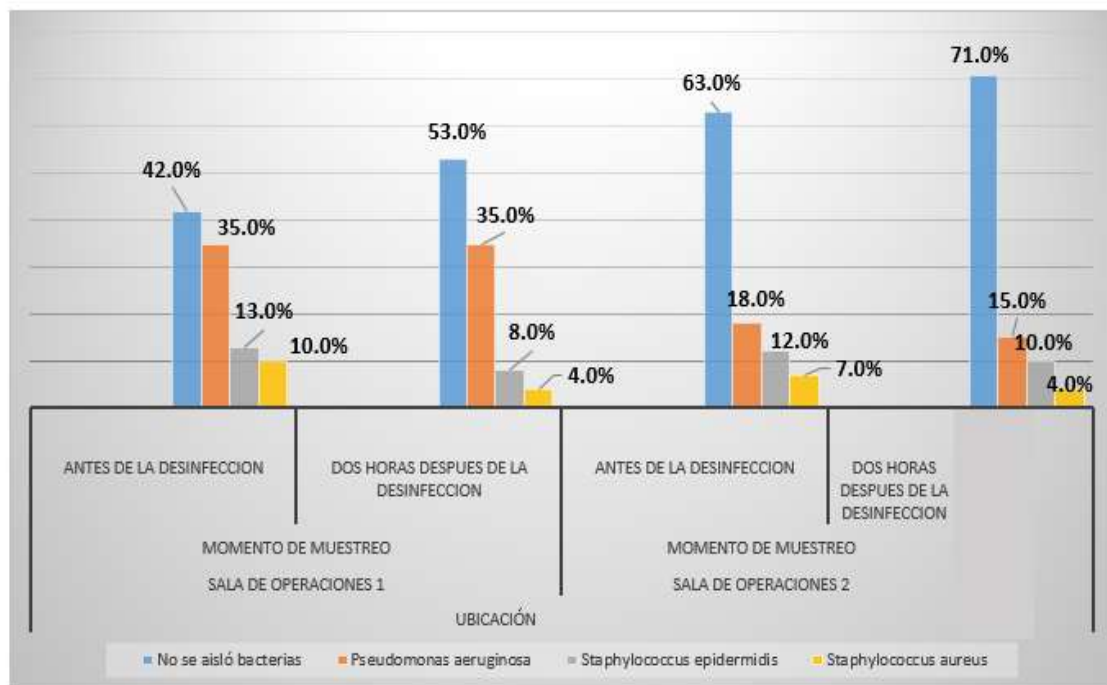
Fuente: Pruebas de laboratorio

ANÁLISIS:

La tabla 14 representa los resultados de bacterias en el ambiente antes y dos horas después de la desinfección en ambas salas de operaciones. Antes de la desinfección en la sala de operaciones 1 se aisló: *Pseudomonas aeruginosa* 35.0%, *Staphylococcus epidermidis* 13.0%, *Staphylococcus aureus* 10.0%, no se aisló bacterias 42.0%. En la sala de operaciones 2 se aisló *Pseudomonas*

aeruginosa 18.0%, *Staphylococcus epidermidis* 12.0 %, *Staphylococcus aureus* 7.0%, no se aisló bacterias 63.0%. Dos horas después de la desinfección en la sala de operaciones 1 se aisló: *Pseudomonas aeruginosa* 35.0%, *Staphylococcus epidermidis* 8.0%, *Staphylococcus aureus* 4.0%, no se aisló bacterias 53.0%. En la sala de operaciones 2: *Pseudomonas aeruginosa* 15.0%, *Staphylococcus epidermidis* 10.0%, *Staphylococcus aureus* 4.0%, no se aisló bacterias 71.0%

Gráfico 14: Bacterias aisladas del ambiente antes y después de la desinfección de las salas de operaciones 1 y 2



Fuente: Tabla 14

INTERPRETACIÓN:

En el gráfico 14 se observan los resultados de bacterias en el ambiente antes y dos horas después de la desinfección en ambas salas de operaciones. Antes de la desinfección en la sala de operaciones 1 se aisló: *Pseudomonas aeruginosa* 35.0%, *Staphylococcus epidermidis* 13.0%, *Staphylococcus aureus* 10.0%, no se aisló bacterias 42.0%. En la sala de operaciones 2 se aisló *Pseudomonas*

aeruginosa 18.0%, *Staphylococcus epidermidis* 12.0 %, *Staphylococcus aureus* 7.0%, no se aisló bacterias 63.0%. Dos horas después de la desinfección en la sala de operaciones 1 se aisló: *Pseudomonas aeruginosa* 35.0%, *Staphylococcus epidermidis* 8.0%, *Staphylococcus aureus* 4.0%, no se aisló bacterias 53.0%. En la sala de operaciones 2: *Pseudomonas aeruginosa* 15.0%, *Staphylococcus epidermidis* 10.0%, *Staphylococcus aureus* 4.0%, no se aisló bacterias 71.0%.

5.2 Prueba de Hipótesis

Resultados de las especies bacterianas aisladas del ambiente y superficies de las salas de operaciones 1 y 2

ÁREAS	RESULTADOS		
	Positivo	Negativo	Total
	Recuento	Recuento	Recuento
Ambiente	9	7	16
Superficies	20	29	49
Total	26	39	65

Para este estudio se plantearon 2 hipótesis:

La primera de ella permitió medir el aislamiento de bacterias en el ambiente; y la segunda en las superficies. Quedando redactadas de la siguiente forma:

Hi₁: Se aíslan bacterias en el ambiente de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, Departamento de la Unión.

Hi₂: Se aíslan bacterias en las superficies de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, Departamento de la Unión.

Su proceso de comprobación se realizó de la siguiente manera:

- a) Prueba para la hipótesis de investigación Hi₁ y Ho₁

Dado que número de muestras tomadas para esta hipótesis es de 16 valor que es menor a 20, el cual debería de ser comprobado por una distribución de

POISSON; condiciona a que la prueba se debe realizar mediante una distribución binomial, además tenemos aislamiento que se convierten en éxitos o casos favorables al evento de aislar (9 muestras positivas) y un total de 18 muestras con las que se hizo el estudio, siendo posible calcular la proporción:

$$P = \frac{9 \text{ casos positivos}}{16 \text{ número de muestras}}$$

Para ello se realizaron los siguientes pasos:

Paso 1: Establecimiento de hipótesis $H_1: P > 1\%$; $H_0: P \leq 1\%$

Paso 2: Con un nivel de significancia del 5% se realiza la verificación de esta prueba

Paso 3: Cálculo del valor P para la distribución binomial

$$P = \frac{9}{16} = 0.56 \approx 0.6$$

Utilizando la tabla de la distribución B (9, 18, 0.6)= 0.437 por lo que
 $1 - 0.437 = 0.56$

Paso 4: Regla de decisión

Si el valor P es mayor al valor de significancia (5%) se acepta H_1 .

Si el valor P es menor al valor de significancia (5%) se acepta H_0 .

Paso 5: Decisión estadística

Dado que el valor $P = 0.56$, el cual es mayor al 5%, entonces se acepta la hipótesis H_{i1} y se rechaza H_{o1} , la cual dice de la siguiente manera: Se aíslan bacterias en el ambiente de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, Departamento de la Unión.

Conclusión General de la Hipótesis

Basándonos en los resultados descriptivos y la comprobación de hipótesis para la variable aislamiento e identificación de bacterias en el ambiente las cuales causan enfermedades en los usuarios intervenidos aumentando los días de hospitalización y como consecuencia causando un impacto económico y social en los usuarios.

b) Prueba para la hipótesis de investigación H_{i2} y H_{o2}

Para esta hipótesis se tiene un tamaño de muestra de 49 el cual supera la condición para usar una distribución normal y verificación que:

$n P = 49 \left(\frac{20}{49} \right) = 10$ y $n P Q = 49 \times 0.40 (1-0.40) = 19.6$; los cuales son mayores a 5. Entonces se cumplen las condiciones necesarias para trabajar la aproximación de la proporción

$\frac{20}{49} = \frac{\text{casos positivos}}{\text{número de muestras}}$ Para la variable superficie mediante la distribución normal.

Realizando el siguiente proceso:

Paso 1: La hipótesis es:

$H_{i2}: P > 1\%$

Ho2: $P \leq 1\%$

Paso 2: Obtención del valor crítico de la tabla normal. Aun cuando el muestreo no es probabilístico se realizara la prueba con un 95% de confianza se tiene que el valor de Z de la tabla (Z_t) es 1.65.

Paso 3: Determinación del valor de Z con los datos muestrales (Z_c) para lo cual se usa la siguiente fórmula:

$$Z_c = \frac{\hat{P} - P}{\sqrt{\frac{P(1-P)}{n}}}$$

Z_c : Zeta calculada

Z_t : Zeta de la tabla estadística

$$\begin{aligned} &= \frac{\frac{20}{49} - 0.01}{\sqrt{\frac{0.01(1-0.01)}{49}}} \text{ Error cometido al estimar } P \text{ con } n=49 \\ &= \frac{0.40 - 0.01}{\sqrt{0.00040}} \\ &= \frac{0.39}{0.02} \end{aligned}$$

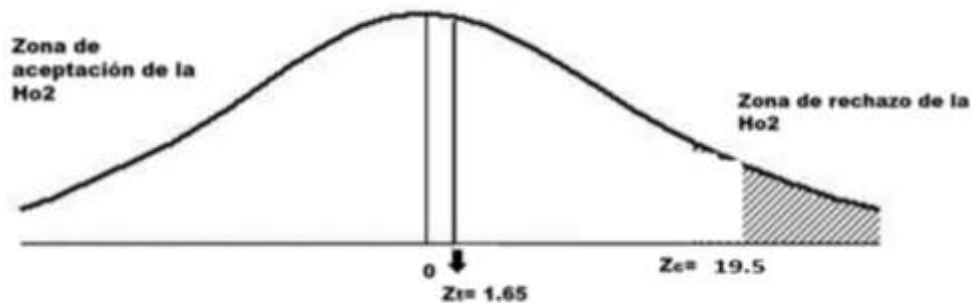
$Z_c = 19.5$

Paso 4: Reglas de decisiones

Si $Z_c > Z_t$ entonces se rechaza H_{o2}

Si $Z_c < Z_t$ entonces se acepta H_0

Paso 5: Decisión estadística



Dado que el valor de $Z_c = 19.5$ el cual es mayor a $Z_t = 1.65$, se acepta la hipótesis H_1 la cual dice de la siguiente manera Se aíslan e identifican bacterias en las superficies de las salas de operaciones Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, Departamento de la Unión

Conclusión General:

Una vez que se ha aceptado la hipótesis de trabajo para la variable aislamiento de bacterias en las superficies siendo estas bacterias patógenas causando enfermedades intrahospitalarias por lo que se debe tomar las medidas necesarias para evitar poner en riesgo la salud de los usuarios.

7.0 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La desinfección adecuada de las salas de operaciones es importante no solo por efectos estéticos sino también para reducir la carga microbiana del ambiente y superficies de las salas de operaciones, ya que en cualquier intervención quirúrgica pueden originarse infecciones. Las infecciones que se presentan en el lugar de la intervención quirúrgica son las mencionadas como infecciones quirúrgicas.

En el estudio realizado sobre: Aislamiento e identificación de bacterias en el ambiente y superficies de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, departamento de la Unión en el período de junio a julio de 2015; los resultados que se obtuvieron son: En la sala de operaciones 1: se aisló *Pseudomonas aeruginosa* 16.0%, *Proteus mirabilis* 4.0%, *Escherichia coli* 4.0%, *Staphylococcus epidermidis* 12.0%, *Staphylococcus aureus* 8.0% y no se aisló bacterias en un 56.0% lo cual constituye el 100%. En la sala de operaciones 2: se aisló *Pseudomonas aeruginosa* 16.7%, *Proteus mirabilis* 4.2%, *Staphylococcus epidermidis* 8.3%, *Staphylococcus aureus* 8.3% y no se aisló bacterias en un 62.5% lo cual constituye el 100%.

Un estudio realizado entre Julio a Septiembre de 2007 en el Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, Departamento de La Unión, para comprobar la presencia de bacterias en las superficies, materiales e instrumentos de las salas de operaciones. Se comprobó que existían bacterias como: *Staphylococcus aureus* 53.12%, *Staphylococcus epidermidis* 13.12%, *Escherichia coli* 3.12%, *Acinetobacter* sp 12.5% y *Bacillus subtilis* 28.2%.

Un estudio realizado entre Mayo a Agosto de 2012 en el Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, departamento de La Unión para investigar la presencia de bacterias relacionadas con las enfermedades de asistencia sanitaria en los

quirófanos de dicho hospital en el cual se aisló un 90% *Pseudomonas aeruginosa* y un 6% *Enterobacter* sp. Y un 4%. *Staphylococcus* sp.

Son preocupantes los resultados encontrados dos horas después de la desinfección ya que en todos los estudios realizados en el mismo hospital es notable la contaminación de microorganismo en ambas salas de operaciones, lo que constituye un factor de riesgo para la salud de los usuarios intervenidos en las salas de operaciones y pone en evidencia la deficiencia de los procesos de desinfección de estas salas de operaciones por lo que se deben tomar las medidas pertinentes para evitar la propagación de las bacterias y evitar complicaciones en los usuarios y mejorar su recuperación.

8.0 CONCLUSIONES

Finalizado el estudio: Aislamiento e identificación de bacterias en el ambiente y superficies de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, Departamento de la Unión en el periodo de junio a julio de 2015. Se concluye lo siguiente:

En la sala de operaciones 1:

En las superficies: **En el área física** se aisló *Pseudomonas aeruginosa* 22.2%, *Proteus mirabilis* 11.1%, *Staphylococcus epidermidis* 11.1% y *Staphylococcus aureus* 11.1%. **Utensilios** se aisló *Pseudomonas aeruginosa* 25.0%, *Proteus mirabilis* 12.5%, *Staphylococcus epidermidis* 25.0% y *Staphylococcus aureus* 25.0%. **Recursos utilizados por el personal** *Pseudomonas aeruginosa* 11.1% y *Staphylococcus epidermidis* 5.6%. **Recursos utilizados para el paciente** *Proteus mirabilis* 16.7%, *Escherichia coli* 33.3% y *Staphylococcus epidermidis* 33.3%.

En la sala de operaciones 2:

En las superficies: **En el área física** se aisló *Pseudomonas aeruginosa* 22.2%, *Proteus mirabilis* 11.1% y *Staphylococcus aureus* 16.7%. **Utensilios** se aisló *Pseudomonas aeruginosa* 25.0%, *Staphylococcus epidermidis* 25.0% y *Staphylococcus aureus* 12.5%. **Recursos utilizados por el personal:** *Pseudomonas aeruginosa* 11.1% y *Staphylococcus aureus* 5.6%. **Recursos utilizados para el paciente:** *Staphylococcus epidermidis* 50.0% y *Staphylococcus aureus* 25.0%.

Los resultados de las bacterias aisladas antes y después de la desinfección de ambas salas de operaciones. En la sala de operaciones 1 se aisló *Pseudomonas aeruginosa* en un 16.0% antes y después de la desinfección, *Proteus mirabilis* 12.0% antes de la desinfección y 4% después de la desinfección, *Escherichia coli* 4.0% antes y después de la desinfección, *Staphylococcus epidermidis* 16.0% antes de la desinfección y 12.0% después de la desinfección, *Staphylococcus*

aureus 8.0% antes y después de la desinfección, no se aisló bacterias en un 44.0% antes de la desinfección y 56.0% después de la desinfección. En la sala de operaciones 2 se aisló *Pseudomonas aeruginosa* en un 16.7% antes y después de la desinfección, *Proteus mirabilis* 4.2% antes y después de la desinfección, *Staphylococcus epidermidis* 8.3% antes y después de la desinfección, *Staphylococcus aureus* 16.7% antes de la desinfección y 8.3% después de la desinfección no se aisló bacterias en un 54.2% antes de la desinfección y 62.5% después de la desinfección.

- Los géneros y especies que se aislaron con mayor frecuencia son: *Staphylococcus epidermidis* con un 75.0%, *Pseudomonas aeruginosa* con un 58.3% y *Proteus mirabilis* con un 40.3% siendo estos dos últimos microorganismos patógenos.

- La sala de operaciones 2 es poco utilizada para realizar procedimientos quirúrgicos entre los cuales están las cirugías de ortopedia y esterilización por lo cual existe menor contaminación.

- Factores predisponentes:
Las salas de operaciones no cuentan con las características establecidas por el ministerio de salud; como paredes lisas y continuas de fácil lavado y aire acondicionado central

- En el equipo médico como el aparato de succión y aparato de anestesia máscara no se realiza la desinfección adecuada, por lo que se observó durante el muestro la presencia de insectos; fluidos biológicos en la cuna radiante
Estadísticamente se acepta la hipótesis de trabajo se aíslan e identifican bacterias en el ambiente de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, Departamento de la Unión, se aíslan e identifican bacterias en las superficies de las salas de operaciones del Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima, Departamento de la Unión.

9.0 RECOMENDACIONES

Al Ministerio de Salud

- Brindar capacitación al personal encargado sobre el proceso correcto de desinfección de las salas de operaciones
- Supervisar que las normas y medidas establecidas por el Ministerio de Salud se cumplan de forma eficiente y eficaz para prevenir las infecciones de sitio quirúrgico
- Implementar el área de bacteriología en el Hospital Nacional de Santa Rosa de Lima con el fin de monitorear y llevar un control interno de los aislamientos a partir de los cultivos realizados en las áreas de las de operaciones.

Al Comité de Infecciones Nosocomiales del Hospital Nacional Santa Rosa de Lima

- Que se realice una supervisión estricta de los procedimientos de desinfección de las salas de operaciones
- Impartir charlas al personal encargado de la desinfección sobre las complicaciones de las enfermedades adquiridas en las salas de operaciones y la importancia de llevar a cabo un buen proceso de desinfección.
- Realizar estudios bacteriológicos cada seis meses en las salas de operaciones 1 y 2.

A los Estudiantes de la carrera de Licenciatura en Laboratorio Clínico de la Facultad Multidisciplinaria Oriental (FMO-UES)

- Continuar realizando investigaciones sobre la presencia de bacterias presentes en las salas de operaciones con el fin de disminuir las infecciones de sitio quirúrgico, y mejorar la atención a los usuarios.

10.0 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. M. Macedo, J Blanco. Infecciones Hospitalarias [en línea] 2008 [fecha de acceso 7 de enero de 2015]; URL disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/infeccioneshospitalarias.pdf>
2. Dr. Miguel Ángel Rodríguez Rodríguez. Comité de Control y Prevención de Infecciones Asociadas a la Asistencia Sanitaria. Informe de instituciones. [En línea] 2003 [fecha de acceso 7 de enero de 2015]; URL disponible en: <http://instituciones.sld.cu/seccioneh/03-comite-de-control-y-prevencion-de-infecciones-asociadas-a-la-asisitencia-sanitaria/>
3. Dr. R. Ballesteros Diego. Infección nosocomial y del sitio quirúrgico en un hospital de tercer nivel (2002- 2005). [En línea] 2006 [fecha de acceso 7 de enero de 2015]; URL disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S021048062006000900007&script=sci_arttext
4. Odionnys Ramos – Lucas, Nelson Molina – Guillen, Werner Pillkahn – Díaz, Julio Moreno – Rodríguez, Agustín Viera – Rodríguez, José Gómez – León. Infección de heridas quirúrgicas en cirugía general. [En línea] 2011 [fecha de acceso 9 de enero 2015]; URL disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/circir/cc-2011/cc114h.pdf>
5. Pedro Alfonso Lemus Cárcamo. Infecciones Intrahospitalarias. Hospital de Jiquilisco – Usulután. Enero –junio de 2009. [En línea] 2010 [fecha de acceso 12 de enero de 2015]; URL disponible en: <http://cedoc.cies.edu.ni/digitaliza/t500/doc-contenido.pdf>

6. LOVO, IRMA. “Aislamiento bacteriano de ambiente y superficies. Entrevista: Licenciada en Enfermería encargada de las infecciones nosocomiales, Santa Rosa de Lima, La Unión, El Salvador, C.A Jueves 5 de febrero de 2015 (9: 00 am – 10:00 am).

7. KONEMAN, ERNER Diagnostico Microbiológico. 5ª edición, Buenos Aires, Editorial Medica Panamericana, 2003, 1431 págs.

8. MINISTERIO DE SALUD. Manual Organizativo y de Funcionamiento de la Central de Esterilización Hospitalaria 1ª edición, San Salvador, El Salvador, CA, 2006, 173 págs.

9. CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS: [En línea]; [fecha de acceso 11 de marzo de 2015] URL disponible en:

http://www.unad.edu.co/fac_ingenieria/pages/Microbiologia_mutimedia/bact_clasif.htm#reqoxig

10. Medios de Cultivos. [En línea]; 2008 [fecha de acceso 16 de marzo 2015] URL disponible en:

http://perso.wanadoo.es/sergioram1/medios_de_cultivo.htm

11. Medios de cultivos: [En línea]; 2009 [fecha de acceso 16 marzo de 2015] URL disponible en:

<http://www.microinmuno.gb.fcen.uba.ar/SeminarioMedios.htm>

12. MEDIOS DE CULTIVO Y PRUEBAS BIOQUIMICAS: [En línea]; [fecha de acceso 18 de marzo de 2015] URL disponible en:

<http://es.scribd.com/doc/5203044/Medios-de-Cultivo-y-PruebasBioquimicas>

13. BRAN DE CASARES Ana Concepción y otros. Manual para enfermería. Lineamientos técnicos en la prevención y control de infecciones nosocomiales. El Salvador, San Salvador. MSPAS ,2006,122 págs.

14. DEL CID, Alhely y otros. Manual de procedimientos técnicos para la vigilancia, prevención y control de las infecciones nosocomiales. El Salvador, San Salvador. MSPAS, 2009,127 pags.

15. Clínica Universidad de Navarra. Diccionario Medico. Sala de Operaciones. [En línea] 2013 [fecha de acceso 16 marzo de 2015]; URL disponible en:
<http://www.medigraphic.com/pdfs/circir/cc-2011/cc114h.pdf>

16. Jorge Tulio Rodríguez, David Prado Cohrs. Microbiología: lo esencial y lo práctico 1ª Edición Washington, Dc OPS 2006, 248 págs.

17. Kenneth J. Rayn,MD y C. George Ray, MD Sherris Microbiología Medica, cuarta edición, México 2004 283 páginas.

18. TAXONOMIA BACTERIOLOGICA BASICA: En línea]; [fecha de acceso 19 de marzo de 2015] URL disponible en:
http://www.qualitat.cc/sitebuildercontent/sitebuilderfiles/taxonomia_basica.pdf

19. MEDIOS DE CULTIVO (MICROBIOLOGIA): En línea]; [fecha de acceso 19 de marzo de 2015] URL disponible en:
[http://www.ecured.cu/index.php/Medio de cultivo \(Microbiología\)](http://www.ecured.cu/index.php/Medio_de_cultivo_(Microbiología))

20. PRUEBAS BIOQUIMICAS: En línea]; [fecha de acceso 19 de marzo de 2015] URL disponible en:
[https://es.wikipedia.org/wiki/Prueba bioquímica](https://es.wikipedia.org/wiki/Prueba_bioquímica)

21. Pruebas bioquímicas primarias: Tinción de GRAM, prueba de la catalasa y oxidasa: En línea]; [fecha de acceso 19 de marzo de 2015] URL disponible en:
<https://microbitos.wordpress.com/2011/.../pruebas-bioquimicas-primarias...>

22. BERNARD JHON, HENRY, TODD-STANFORD, DAVIDSOHN. 1988. Diagnóstico y Tratamiento Clínico para el Laboratorio. SALVAT editores, Barcelona. Pág. 1,327-1,329.

23. GARCIA MARTOS. 1994. Microbiología práctica. 2ª edición. Editorial servicio de publicaciones de la Universidad de Cádiz. Pág. 132-133.

24. GIUSSEPE NICOLETTI, NICOLOSI VITO MAR. 1990. Diccionario de Bacteriología Humana. Barcelona, España, Editorial Española Menarini. Pág. 79-80, 106-108, 170-172, 214.

25. HENTGES DAVID J. 1995. Microbiology & Immunology. 2ª edición. Texas, USA. Editorial Little-Brown. Pág. 87.

26. RODRIGUEZ CAVALLINI, EVELYN. 2005. Bacteriología General. Principios y Prácticas de Laboratorio. Editorial Universidad de Costa Rica. Pág. 213.

Fig.1 CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS SEGÚN SU MORFOLOGÍA Y DISPOSICIÓN

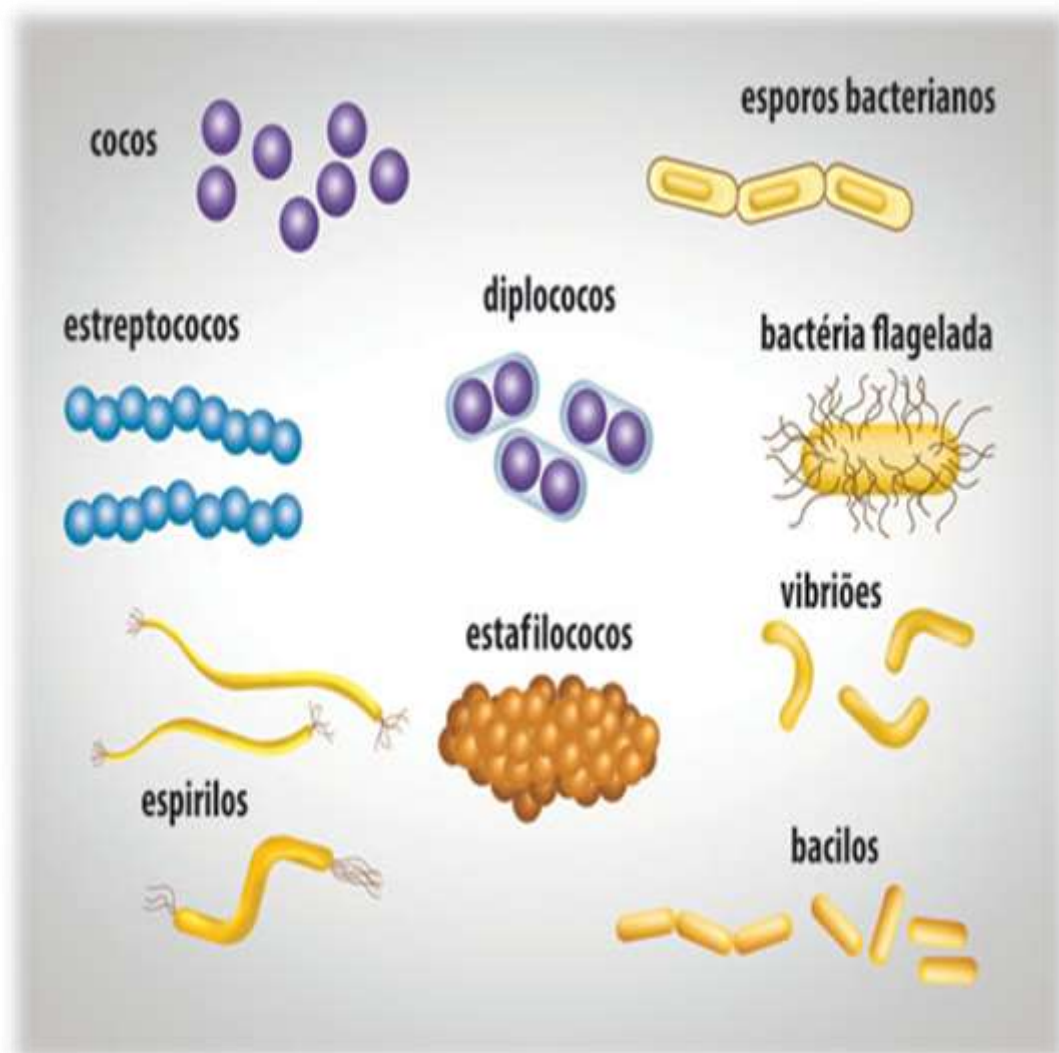


Fig.2 PARED BACTERIANA

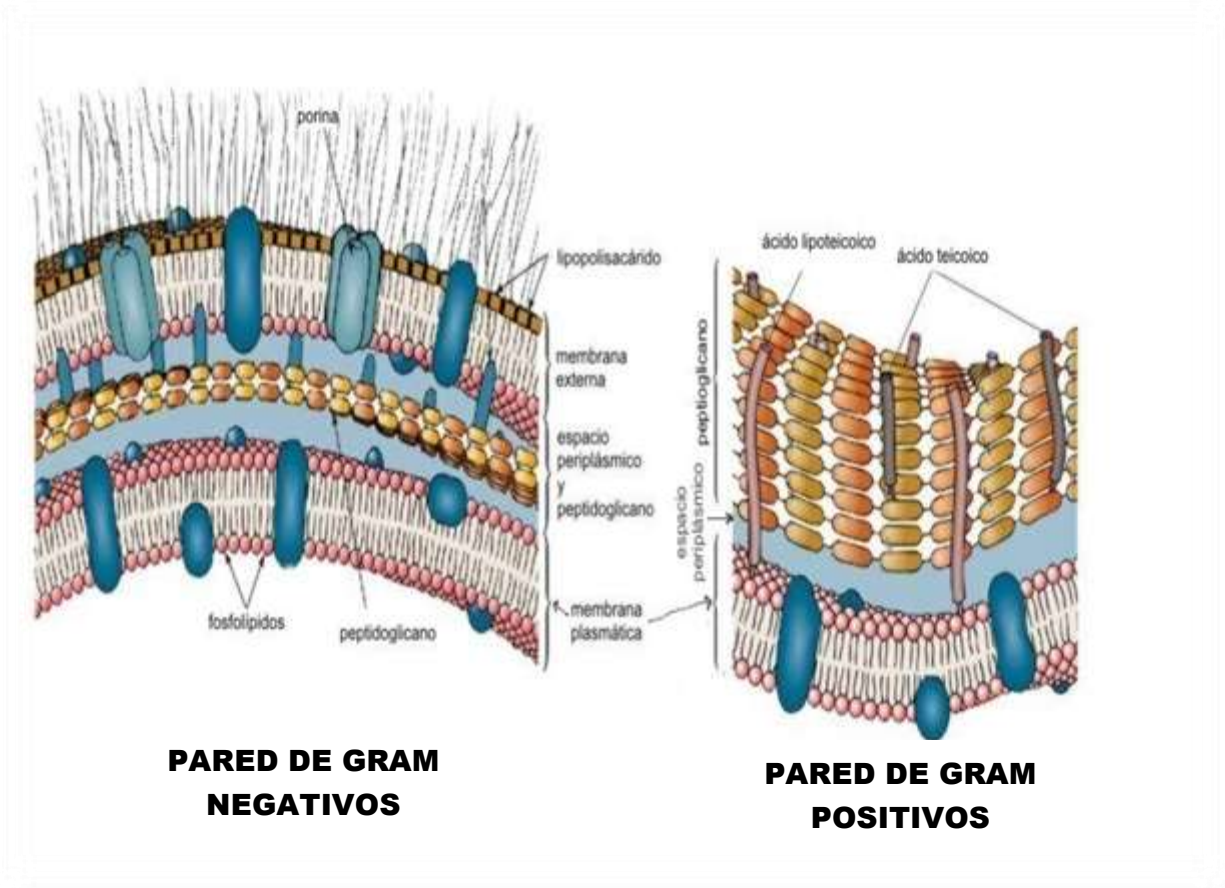


Fig.3 ESTRUCTURA BACTERIANA

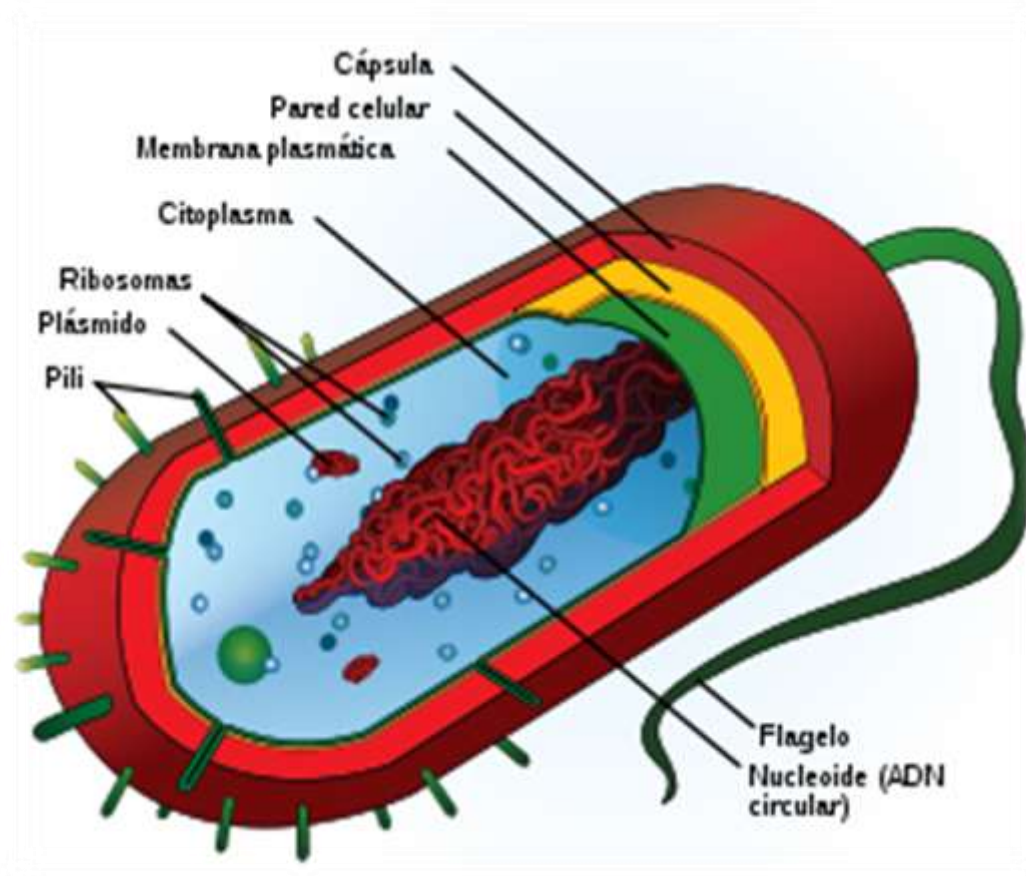


Fig.4 PROCEDIMIENTO DE LA COLORACIÓN DE GRAM

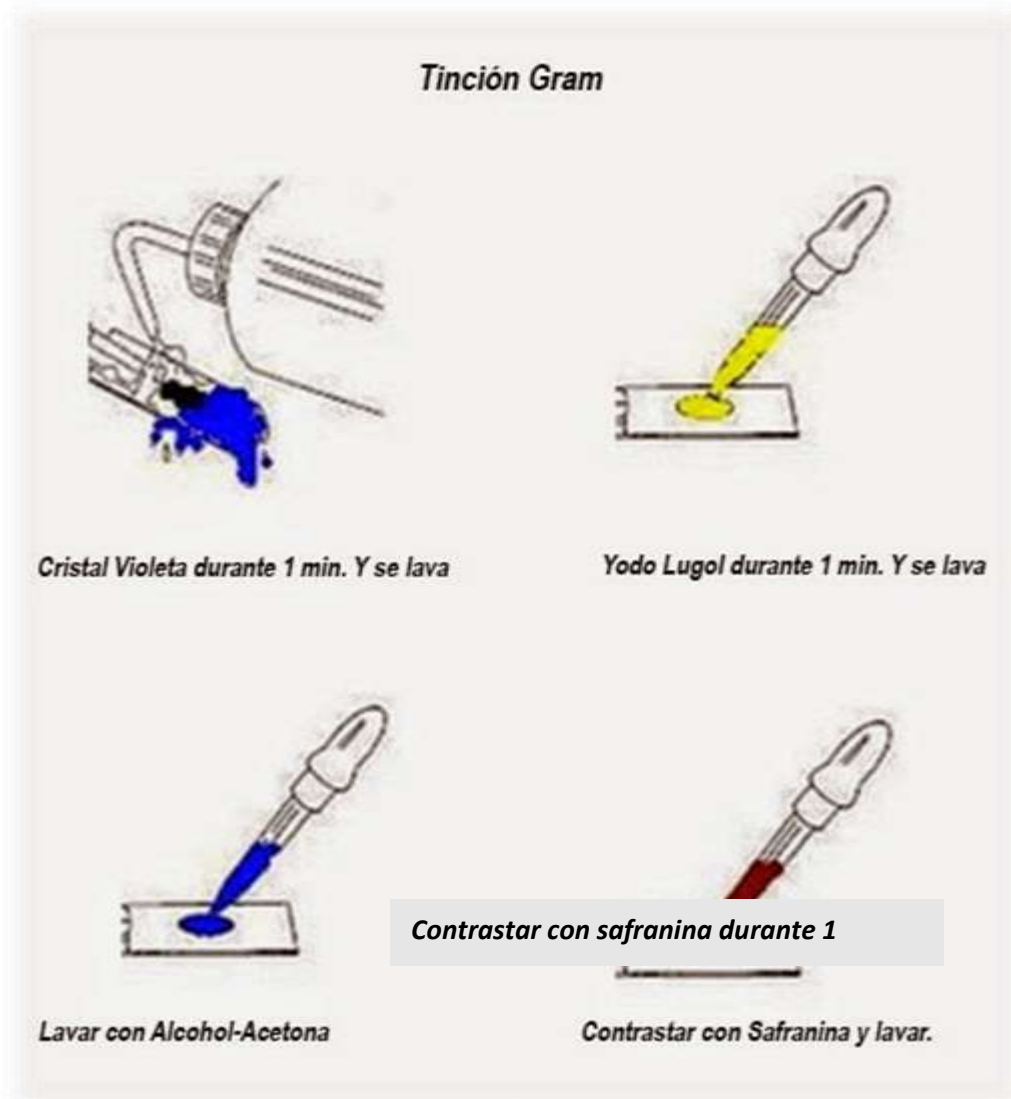


Fig.5 MORFOLOGÍA DE LAS COLONIAS SEGÚN FORMA, MARGEN Y ELEVACIÓN.

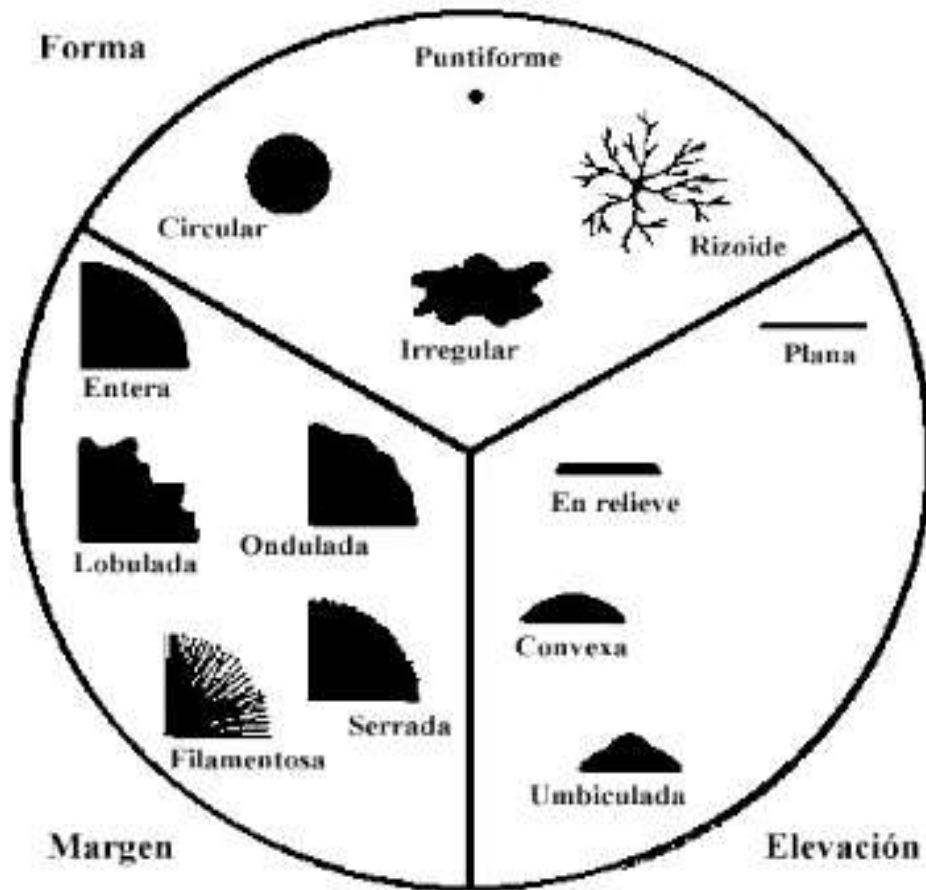


Fig. 6 TIPOS DE HEMÓLISIS EN AGAR SANGRE DE CARNERO AL 5%

A) Hemólisis Beta



B) Hemólisis Alfa



Fig.7 PRUEBA DE LA CATALASA

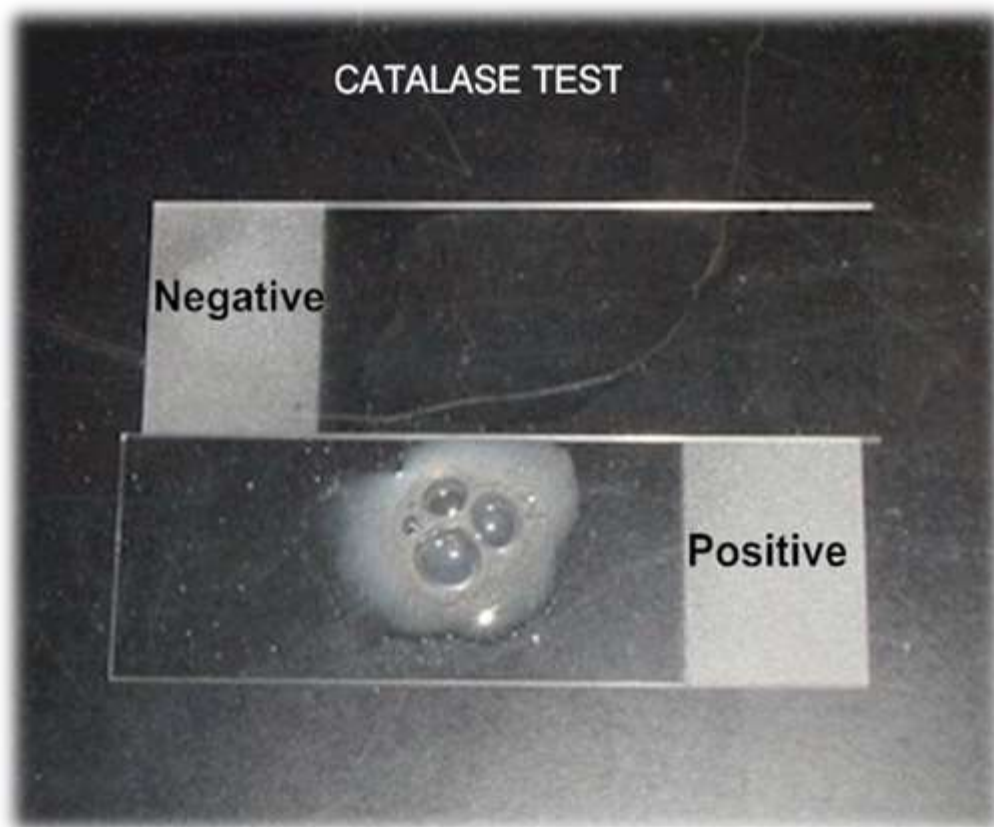


Fig. 8 PRUEBA DE LA COAGULASA

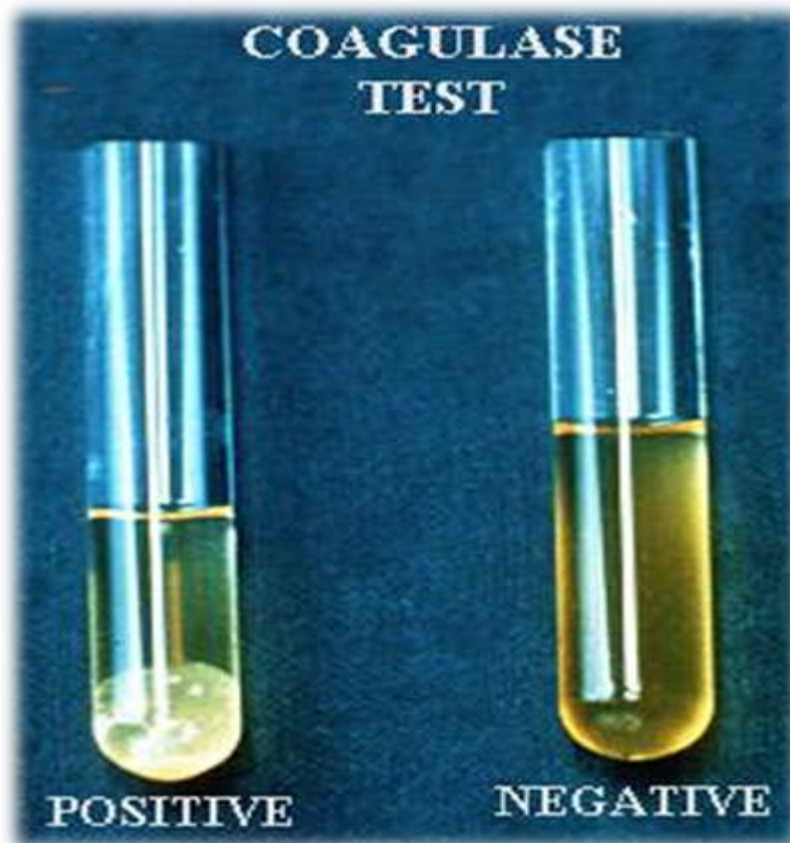


Fig. 9 *Pseudomonas aeruginosa*



A) *Pseudomonas aeruginosa* en Agar Sangre al 5% presenta colonias opacas y viscosas.

B) Prueba bioquímica

TSI: K/K GAS: Negativo H₂S:
Negativo

UREA: Negativo

CITRATO DE SIMONS: Positivo

INDOL: Negativo

ROJO DE METILO: Negativo

MOVILIDAD: Negativo

B)



Fig. 10 *Escherichia coli*



A) *Escherichia coli* en agar MacConkey presenta colonias lactosa positiva.

B) Prueba bioquímica

TSI: A/A GAS: Negativo H₂S:
Negativo

UREA: Negativo

CITRATO DE SIMONS: Negativo

INDOL: Positivo

ROJO DE METILO: Positivo

MOVILIDAD: Positivo



Fig. 11 *Klebsiella pneumoniae*



A) *Klebsiella pneumoniae* en agar MacConkey presenta colonias mucosas.

B) Prueba bioquímica

TSI: A/A GAS: Positivo
H₂S: Negativo

UREA: Negativo

CITRATO DE SIMONS:
Positivo

INDOL: Negativo

ROJO DE METILO:
Positivo

MOVILIDAD: Negativo



Fig. 12 *Proteus mirabilis*



A) *Proteus mirabilis* en agar MacConkey presenta colonias blanquecinas o translúcidas y fenómeno de swarming.

B) Prueba bioquímica

TSI: K/A GAS: Positivo

H₂S: Positivo

UREA: Positivo

CITRATO DE SIMONS:
Negativo

INDOL: Negativo

ROJO DE METILO:
Positivo

MOVILIDAD: Positivo

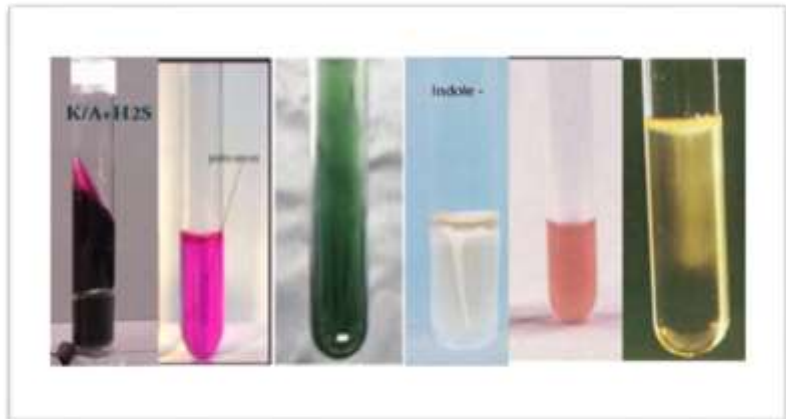
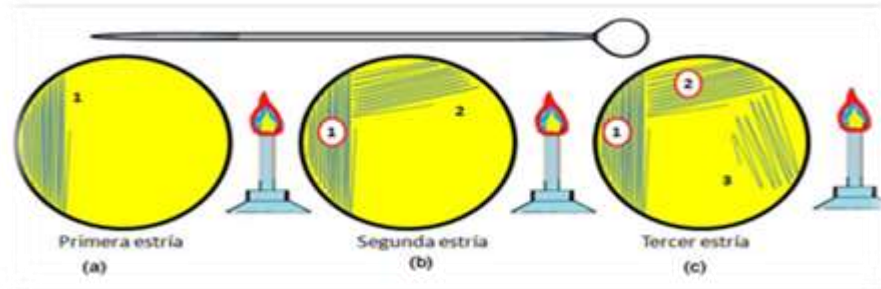


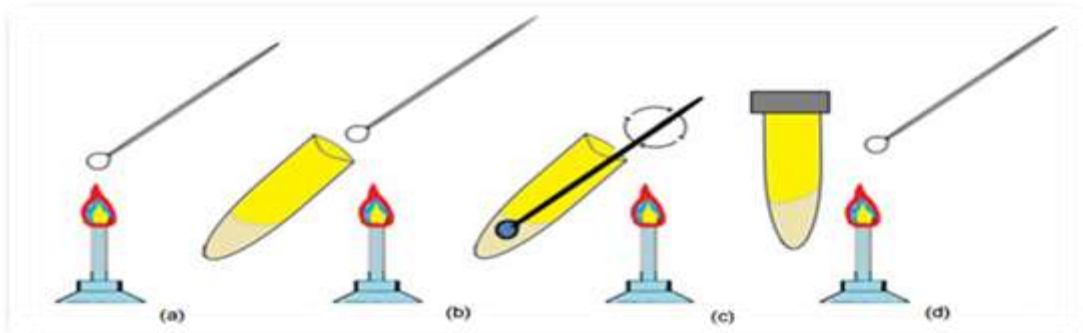
Fig. 13 TÉCNICAS DE SIEMBRA EN PLACA DE PETRI Y EN TUBO

A) EN PLACA DE PETRI



(a) Inicio de la inoculación y distribución de la muestra con el asa bacteriológica, (b) y (c) distribución de los cuadrantes 2 y 3 se coloca uno o dos estrías del cuadrante anterior con la finalidad de obtener colonias aisladas. Terminada la distribución en cada cuadrante se flamea el asa.

B) EN TUBO



(a) Se flamea el asa bacteriológica (b) se enfría y se recolecta la muestra (c) se introduce en el tubo con medio líquido y se gira el asa para que se desprenda la muestra (d) se cierra el tubo se flamea el asa. El proceso se realiza cerca de llama del mechero.

Fig. 14 VESTIMENTA Y LAVADO DE MANOS

A) Vestimenta adecuada



B) Lavado de manos clínico



C) Colocación de guantes



Fig. 15. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO Y SIEMBRA DE MUESTRAS

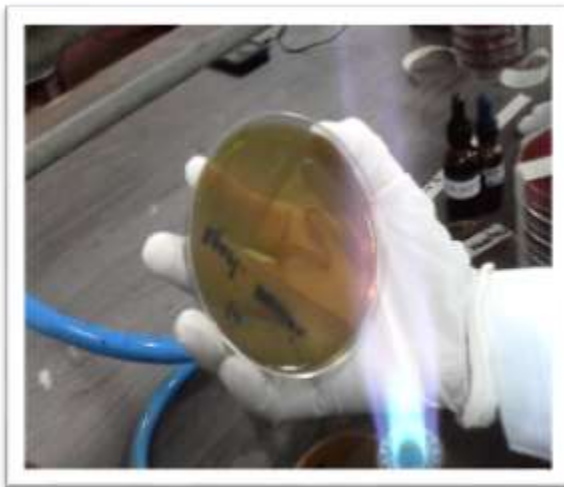


Fig.16 TOMA DE MUESTRAS EN LAS SALAS DE OPERACIONES



MESA QUIRÚRGICA



MESA CIRCULAR



AIRE ACONDICIONADO

FIG. 17 BACTERIAS AISLADAS EN LAS SALAS DE OPERACIONES 1 Y 2



PUERTA



PARED



AIRE ACONDICIONADO

Se aisló *Pseudomonas areuginosa*



NEGATOSCOPIO



MESA QUIRÚRGICA

**Se aisló *Staphylococcus aureus*
en ambas superficies**



MESA MAYO



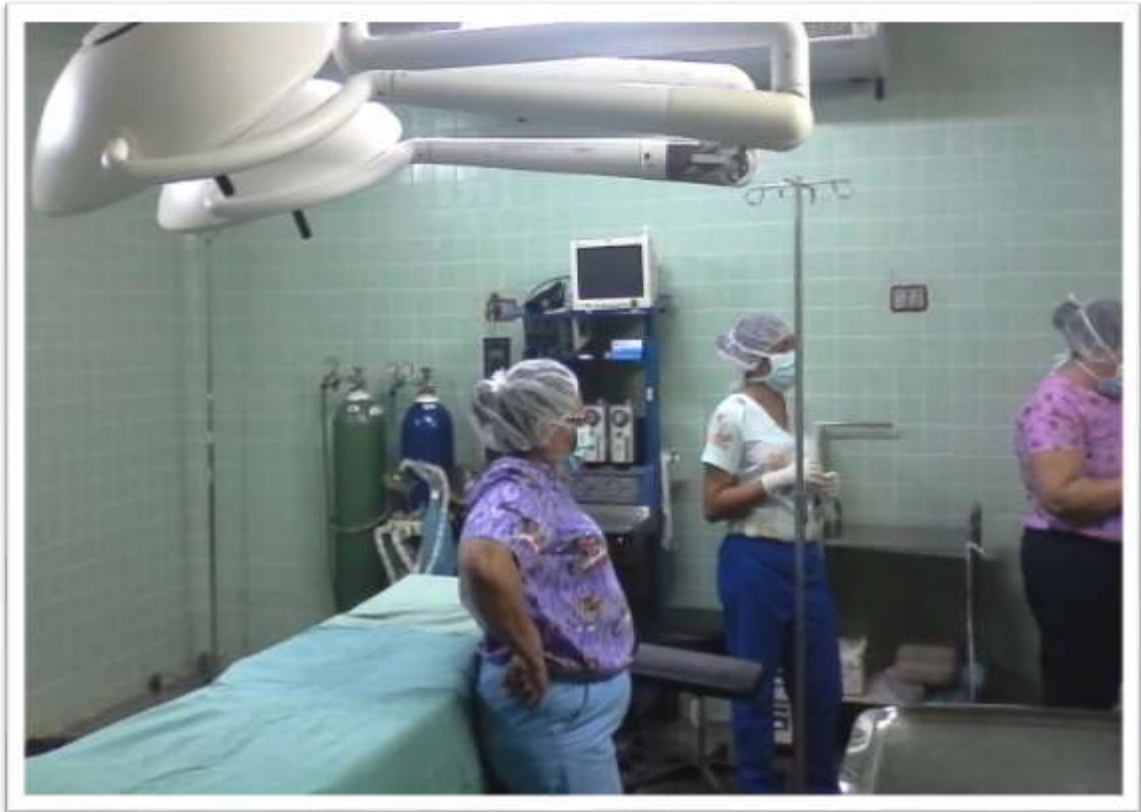
MESA CIRCULAR



APARATO DE ANESTESIA

Se aisló *Staphylococcus epidermidis*

FIG 18. SALA DE OPERACIONES DEL HOSPITAL NACIONAL
DE SANTA ROSA DE LIMA



ANEXO 1

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES A DESARROLLAR EN EL PROCESO DE GRADUACIÓN CICLO I Y II AÑO 2015.

MESES	FEBRER O/2015				MARZO/ 2015				ABRIL/2 015				MAYO/2 015				JUNIO/2 015				JULIO/20 15				AGOST O/2015				SEPTIEM BRE/2015				OCTUBRE/ 2015			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
SEMANAS																																				
ACTIVIDADES																																				
1. Reuniones Generales con la Coordinación del Proceso de Graduación	■	■																																		
2. Elaboración del Perfil de Investigación			■	■																																
3. Inscripción del Proceso de Graduación y Aprobación del Tema de Investigación y Presentación	■	■																																		
4. Elaboración del Protocolo de Investigación			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■																					
5. Entrega del Protocolo de Investigación								■																												
6. Ejecución de la Investigación																■	■																			
7. Tabulación, Análisis e Interpretación de los Datos																						■	■	■												
8. Redacción del Informe Final																							■													
9. Entrega del Informe Final																								■	■	■										
10. Exposición de Resultados y Defensa del Informe Final de investigación																																			■	

ANEXO 2

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES ESPECÍFICAS

MESES	JUNIO				JULIO				AGOSTO				SEPTIEMBRE				OCTUBRE			
Semanas	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Actividades																				
Reunión con el docente director	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■							
Reunión con la jefa de infecciones nosocomiales	■																			
Presupuesto compras de material	■	■																		
Tomas de muestras de las salas de operaciones				■	■															
Lectura de los resultados obtenidos				■	■	■														
Entrega de resultados al comité de infecciones nosocomiales									■											
Tabulación de resultados										■	■	■								
Elaboración de graficas										■	■	■								
Análisis de los resultados													■							
Conclusión y recomendaciones														■	■					
Exposición del informe final																				■

ANEXO 3

PRUEBA DE LA CATALASA

FUNDAMENTO:

La prueba de la catalasa se usa con mucha frecuencia para diferenciar miembros de la familia Micrococaceae de miembros de la familia Streptococcaceae.

La catalasa es una enzima que poseen la mayoría de las bacterias aerobias. Descompone el peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno. El desprendimiento de burbujas procedentes del oxígeno indica que la prueba es positiva.

MATERIALES Y REACTIVOS:

- ✓ Peróxido de Hidrogeno al 3% almacenado en frasco ámbar en frio.
- ✓ Cultivo de 18 – 24 horas del microorganismo a probar.

PROCEDIMIENTO:

- ✓ Se coloca una gota de peróxido de hidrogeno al 3% sobre un portaobjeto con la ayuda de un dispensador
- ✓ Con la ayuda de una asa bacteriológica en argolla tomar una pequeña proporción de una cepa bacteriana

INTERPRETACIÓN:

- ✓ Observar la formación de burbujas (liberación de oxigeno indica una prueba positiva).

ANEXO 4

PRUEBA DE LA OXIDASA

FUNDAMENTO:

El sistema citocromo oxidasa, se halla en microorganismo aerobios, microaerofilicos y anaerobios facultativos.

PROCEDIMIENTO:

- ✓ Hacer una suspensión del microorganismo con solución fisiológica (inoculo) en un tubo de vidrio
- ✓ Agregar un disco (disco de papel impregnado de tetrametil – para difenilamina) se agita y antes de los 2 minutos se debe leer.

INTERPRETACIÓN:

- ✓ Un cambio de color del disco a rosado o violeta: Prueba positiva
- ✓ Si no hay cambio de color el microorganismo es oxidasa negativo.

ANEXO 5

PRUEBA DE LA COAGULASA

FUNDAMENTO:

Probar la capacidad de un microorganismo de coagular el plasma por la acción de la enzima coagulasa.

Esta prueba se usa para diferenciar especies dentro del género *Staphylococcus*

La prueba de la coagulasa se utiliza para la identificación de *Staphylococcus aureus* y con frecuencia se usa para indicar virulencia o patogenicidad.

PROCEDIMIENTO:

- ✓ En un tubo de vidrio agregar 0.5 ml de plasma
- ✓ Tomar una asada de una colonia y mezclar suavemente
- ✓ Incubar a 37 grados centígrados por 4 horas.(observar cada 30 minutos)
- ✓ Inclinar suavemente el tubo

INTERPRETACIÓN:

- ✓ Formación del coagulo

ANEXO 6

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

CITRATO DE SIMMONS

FUNDAMENTO:

El principio de la prueba de utilización del citrato como su única fuente de carbono, también utiliza sales de amonio como su única fuente de nitrógeno. Las sales de amonio, fosfato de amonio son degradados a amoníaco, lo cual aumenta la alcalinidad

- ✓ Color del medio sin inocular: Verde
- ✓ Ph:6.9
- ✓ Indicador de Ph: Azul de bromotimol.

TÉCNICA:

- ✓ Inocular el tubo con asa en punta el Agar Citrato de Simmons realizando siembra por estría tomando una colonia del microorganismo en estudio.
- ✓ Incubar a 37 grados centígrados por 24 horas.

INTERPRETACIÓN:

El desarrollo de un color azul intenso en 24-48 horas indica una prueba positiva y revela que el microorganismo en estudio ha sido capaz de utilizar el citrato en el medio con la formación de productos alcalinos. La prueba también es positiva en ausencia de color azul si existe crecimiento del microorganismo a lo largo de la estría de inoculación.

TSI (TRES AZUCARES Y HIERRO)

FUNDAMENTO:

Es una prueba usada para la fermentación de la glucosa, lactosa y sacarosa y la producción de H₂S por parte de la bacteria sumándole producción de gas. El cambio de color rojo – anaranjado (color inicial del medio) a amarillo indica fermentación. Si se fermenta únicamente la glucosa el cambio de color del medio ocurre solamente en el fondo debido a que se encuentra 10 veces menos concentrada que la sacarosa y la lactosa, además los radicales libres no son suficientes para hacer virar el medio. Si se fermentan los 3 azúcares hay cambio de color tanto en la superficie como en el fondo. La presencia de burbujas que rompen el medio y a veces tienden a expulsarlo indica presencia de gas como producto final de la fermentación.

La producción de H₂S se manifiesta por la aparición de un precipitado color negro debido a la reducción de la sal de hierro presente en el medio.

TÉCNICA:

Inocular el medio utilizando asa en punta realizando siembra mixta del microorganismo en estudio, incubar a 37 grados centígrados por 24 horas.

INTERPRETACIÓN:

- ✓ A: Reacción ácida. Color amarillo
- ✓ K: Reacción alcalina. Color roja naranja
- ✓ A/A Fermentación 3 azúcares
- ✓ K/A: Fermentación de la glucosa
- ✓ K/K: No hay fermentación de los 3 azúcares
- ✓ Burbujas: Producción de gas
- ✓ Precipitado negro: Formación H₂S

SIM (SULFURO–INDOL-MOTILIDAD)

FUNDAMENTO:

El indol es uno de los productos de degradación del metabolismo del aminoácido triptófano. Las bacterias que poseen la enzima triptofanasa pueden degradar el triptófano y de este modo producir indol, ácido pirúvico y amonio.

El indol puede detectarse mediante el desarrollo de color rojo, después de agregar una solución que contiene p- dimetilaminobenzaldehído (reactivo de Erlich o de Kovac)

TÉCNICA:

Inocular al medio utilizando asa en argolla realizando siembra hasta la mitad del medio a partir del cultivo del microorganismo en estudio. Incubar 24 horas a 37 grados centígrados. Al finalizar este periodo añadir 5 gotas del reactivo de Kovacs por la pared del tubo.

INTERPRETACIÓN:

El desarrollo de un color rojo- fucsia en la interfase del reactivo y de los medio segundos después añadir el reactivo de Kovacs indica la presencia de indol y por lo tanto una prueba positiva.

MOVILIDAD

FUNDAMENTO:

Es una prueba utilizada para determinar si un microorganismo es móvil o inmóvil.

TÉCNICA:

Siembra en picadura utilizando asa en punta con el microorganismo a estudiar, incubar 24 horas a 37 grados centígrados, aunque también es recomendable incubar entre 22 a 25 grados centígrados a temperatura ambiente, esto se debe a que unos microorganismos son inmóviles a 37 grados centígrados.

INTERPRETACIÓN:

Resultado positivo (Móvil): Microorganismos móviles que migran desde la línea de siembra el medio que lo rodea permanece turbio.

Resultado negativo (Inmóvil): Crecimiento bacteriano acentuado a lo largo de la línea de siembra el medio que lo rodea permanece claro.

UREA

FUNDAMENTO:

Determinar la capacidad de un microorganismo de hidrolizar la urea en dos moléculas de amoníaco por la acción de la enzima ureasa, con la resultante alcalinidad.

MEDIOS DE CULTIVOS EMPLEADOS:

- ✓ Caldo con urea de Rustigian y Stuart (Ph 6.8)
- ✓ Agar con urea de Christensen (Ph 6.8)
- ✓ Caldo con urea R (Rápida)

TÉCNICA:

Inocular con asa en argolla el caldo, incubar a 37 grados centígrados por 24 horas.

INTERPRETACION:

Positivo: Color rosa intenso en todo el caldo

Negativo: Sin cambio de color (amarillo- naranja)

ROJO DE METILO

FUNDAMENTO:

La prueba del rojo de metilo proporciona características valiosas para la identificación de especies bacterianas que producen ácidos fuertes a partir de la glucosa (ácido láctico, acético y fórmico).

TÉCNICA:

Inocular utilizando asa en argolla el caldo RMVP con una colonia del cultivo del microorganismo en estudio. Incubar 24 – 48 horas a 37 grados centígrados. Finalizando este periodo adicionar 5 gotas del indicador Rojo de Metilo.

INTERPRETACIÓN:

El desarrollo de un color rojo estable en la superficie del medio indica que la producción de ácido es suficiente como para bajar el Ph a 4.4 y es una prueba positiva. Cuando ocurre la formación de un color amarillo la prueba es negativa.

ANEXO 7

PREPARACIÓN DE MEDIOS

AGAR MACCONKEY

- Pesar 100 gramos del medio deshidratado de agar MacConkey usando papel, utilizando un baja lengua.
- Colocar el medio ya pesado en un Erlenmeyer y agregar el volumen de agua necesario con una Probeta (2000ml).
- Disolver con calentamiento y agitación suave y constante. Evitar que hierva vigorosamente. La dilución se completara cuando no se observan partículas sólidas en las paredes del frasco.
- Tapar el frasco con una torunda de algodón y gasa.
- Esterilizar a 15 libras a presión/ 15 minutos.
- Dejar enfriar a 60°C.
- Distribuir en las placas estériles, aproximadamente 20 ml.
- Luego almacenar los medios de cultivo en refrigeración a 4°C. Las placas se colocan en posición invertida.

AGAR SANGRE

- Pesar 80 gramos del medio deshidratado base sangre. Utilizando un baja lengua.
- Colocar el medio ya pesado en un Erlenmeyer y agregar el volumen de agua necesario con una probeta.
- Disolver por calentamiento y agitación suave y constante. Evitar que hierva vigorosamente. La dilución se completa cuando no se observan partículas sólidas en las paredes del frasco.
- Tapar el frasco con una torunda de algodón y gasa.
- Esterilizarlo a 15 libras de presión / 15 minutos.
- Dejar enfriar el medio estéril a 45° o 50° C, agregar 100cc de sangre estéril (5%) mescle y vacíelo en placas estériles aproximadamente 15cc en cada placa. Esto debe realizarse en un cuarto cerrado y en el área del mechero por evitar contaminación de las placas

CALDO TRIPTICASA SOYA

- Pesar 24 gramos del medio deshidratado de caldo tripticasa soya usando papel, utilizando un baja lengua.
- Colocar el medio ya pesado en Erlenmeyer y agregar el volumen de agua necesario con una probeta (800ml).
- Disolver con calentamiento y agitación suave y constante. Evitar que hierva vigorosamente.
- Distribuir en tubo con tapón de rosca aproximadamente 4 ml de caldo.
- Esterilizar a 15 libras de presión / 15 minutos.

PRUEBAS BIOQUIMICAS

TRES AZUCARES Y HIERRO

(TSI)

- Pesar 1.29 gramos del medio deshidratado de TSI usando papel, utilizando un baja lengua.
- Colocar el medio ya pesado en un Erlenmeyer y agregar el volumen de agua necesario con una Probeta (20ml).
- Disolver con calentamiento y agitación suave y constante. Evitar que hierva vigorosamente. La dilución se completara cuando no se observan partículas sólidas en las paredes del frasco.
- Tapar el frasco con una torunda de algodón y gasa.
- Esterilizar a 15 libras a presión/ 15 minutos.
- Dejar enfriar a 60°C.
- Distribuir en tubos estériles, aproximadamente 4 ml.
- Colocar los tubos en posición vertical.
- Luego almacenarlos en refrigeración a 4°C.

CITRATO DE SIMMONS

- Pesar 0.46 gramos del medio deshidratado de citrato de simmons usando papel, utilizando un baja lengua.
- Colocar el medio ya pesado en un Erlenmeyer y agregar el volumen de agua necesario con una Probeta (20ml).
- Disolver y agitar suave y constante. Tapar el frasco con una torunda de algodón y gasa.
- Esterilizar a 15 libras a presión/ 15 minutos.
- Dejar enfriar a 60°C.
- Distribuir en tubos estériles, aproximadamente 4ml.
- Colocar verticalmente, guardar en refrigeración a 4°C.

INDOL

- Pesar 0.6 gramos del medio deshidratado de indol usando papel, utilizando un baja lengua.
- Colocar el medio ya pesado en un Erlenmeyer y agregar el volumen de agua necesario con una Probeta (20ml).
- Disolver con calentamiento y agitación suave y constante. Evitar que hierva vigorosamente. La dilución se completara cuando no se observan partículas sólidas en las paredes del frasco.
- Tapar el frasco con una torunda de algodón y gasa.
- Esterilizar a 15 libras a presión/ 15 minutos.
- Dejar enfriar a 60°C.
- Distribuir en tubos estériles, aproximadamente 4ml.
- Guardar en refrigeración a 4°C.

MOVILIDAD

- Pesar 0.6 gramos del medio deshidratado usando papel, utilizando un baja lengua.
- Colocar el medio ya pesado en un Erlenmeyer y agregar el volumen de agua necesario con una Probeta (20ml).
- Disolver con calentamiento y agitación suave y constante. Evitar que hierva vigorosamente. La dilución se completara cuando no se observan partículas sólidas en las paredes del frasco.
- Tapar el frasco con una torunda de algodón y gasa.
- Esterilizar a 15 libras a presión/ 15 minutos.
- Dejar enfriar a 60°.
- Distribuir en tubos estériles, aproximadamente 4ml.
- Guardar en refrigeración a 4° C.

ROJO DE METILO

- Pesar 0.34 gramos del medio deshidratado de rojo de metilo usando papel, utilizando un baja lengua.
- Colocar el medio ya pesado en un Erlenmeyer y agregar el volumen de agua necesario con una Probeta (20ml).
- Disolver con calentamiento y agitación suave y constante. Evitar que hierva vigorosamente. La dilución se completara cuando no se observan partículas sólidas en las paredes del frasco.
- Tapar el frasco con una torunda de algodón y gasa.
- Esterilizar a 15 libras a presión/ 15 minutos.
- Dejar enfriar a 60° C.
- Distribuir en tubos estériles, aproximadamente 4ml.
- Guardar en refrigeración a 4°C.

ANEXO 8

RESULTADOS DE PRUEBA BIOQUÍMICAS

TABLA PARA LA IDENTIFICACION DE LA FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE

Shigella sp. Escherichia coli.	TSI				Urea	Indol	MR	VP	Citrato	Movilidad	PPA	KCN	Descarboxilasa		
	Bisel	Fondo	Gas	HS									L	A	O
Escherichia coli.	K A ó K	A A	- + ó -	- -	-	+ ó - +	+ +	- -	- -	- + ó -	- -	- -	L + ó -	A + ó -	O + ó -
Salmonella spp.	K	A	+	2-4 + Raro	-	-	+	-	+	+	-	-	+	(+)	+
Salmonella typhi	K	A	-	1+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	- ó (+)	-
Arizona	K ó A	A	+	2-4 +	-	-	+	-	+	+	-	-	+	(+)	+
Citrobacter freundii	K ó A	A	+	2-4 +	- o + s	-	+	-	+	+	-	+	-	(+)	- ó +
C. diversus	K	A	+	-	+ s	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+ ó (+)
Klebsiella	A	A	+	-	+ s ó -	- ó +	- ó +	+	+	-	-	+	+	-	-
Enterobacter cloacae	A	A	+	-	+ s ó -	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+
E. aerogenes 35°	A	A	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+
Hafnia spp.	K	A	+	-	-	-	+ ó -	+ ó -	+ ó -	+	-	+	+	-	+
E. agglomerans	A ó K	A	- ó +	-	- ó + s	- ó +	- ó +	+ ó -	+ ó -	+ ó -	- ó +	- ó +	-	-	-
Serratia marcescens	K	A	- ó +	-	- ó + s	-	- ó +	+	+	+	-	+	+	-	+
35°	A	A	+	-	- ó + s	-	+ ó -	- ó +	+	+	-	+	+	-	+
S. liquefaciens 22°	A	A	+	-	-	-	- ó +	+ ó -	+	+	-	+	+	-	+
S. rubidaea	A	A	-	-	- ó + s	-	- ó +	+	+ ó (+)	+ ó -	-	- ó +	+ ó (+)		+
Proteus vulgaris	A ó K	A	+	2-4 +	+	+	+	-	+ ó -	+	+	+	-	-	-
Proteus mirabilis	K	A	+	4 +	+	-	+	- ó +	+ ó (+)	+	+	+	-	-	+
P. retgeri	K	A	- ó + w	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	
Morganella morganii	K	A	+	-	- ó + ½	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+
Providencia	K	A	- ó +	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
Edwardsiella	K	A	+	3 +	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+
Yersinia enterocolitica	A	A	-	-	+ s	+ ó -	+	-	-	-	-	-	-	-	+

Leyenda: PPA = Fenilalanina
s = Bisel
(+) = Positivo retardado
+ w = Positivo débil

ANEXO 9

FORMULARIO PARA LA TOMA DE MUESTRA

Universidad de El Salvador
Facultad Multidisciplinaria Oriental
Departamento de Medicina
Carrera de Licenciatura en Laboratorio Clínico

Sala muestreada _____

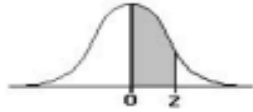
Fecha de realización _____

Hora de procesamiento en el laboratorio _____

N° de tubo	Ambiente	Superficies	Hora de recolección de la muestra
Total			

ANEXO 10

TABLA DE DISTRIBUCIÓN NORMAL



z	0'00	0'01	0'02	0'03	0'04	0'05	0'06	0'07	0'08	0'09
0'0	0'00000	0'00399	0'00798	0'01197	0'01595	0'01994	0'02392	0'02790	0'03188	0'03586
0'1	0'03983	0'04380	0'04766	0'05172	0'05567	0'05962	0'06356	0'06749	0'07142	0'07535
0'2	0'07926	0'08317	0'08706	0'09095	0'09483	0'09871	0'10257	0'10642	0'11026	0'11409
0'3	0'11791	0'12172	0'12552	0'12930	0'13307	0'13683	0'14058	0'14431	0'14803	0'15173
0'4	0'15554	0'15910	0'16276	0'16640	0'17003	0'17364	0'17724	0'18082	0'18439	0'18793
0'5	0'19146	0'19497	0'19847	0'20194	0'20540	0'20884	0'21226	0'21566	0'21904	0'22240
0'6	0'22575	0'22907	0'23237	0'23565	0'23891	0'24215	0'24537	0'24857	0'25175	0'25490
0'7	0'25804	0'26115	0'26424	0'26730	0'27035	0'27337	0'27637	0'27935	0'28230	0'28524
0'8	0'28814	0'29103	0'29389	0'29673	0'29955	0'30234	0'30511	0'30785	0'31057	0'31327
0'9	0'31594	0'31859	0'32121	0'32381	0'32639	0'32894	0'33147	0'33398	0'33646	0'33891
1'0	0'34134	0'34375	0'34614	0'34850	0'35083	0'35313	0'35543	0'35769	0'35993	0'36214
1'1	0'36433	0'36650	0'36864	0'37076	0'37286	0'37493	0'37698	0'37900	0'38100	0'38298
1'2	0'38493	0'38686	0'38877	0'39065	0'39251	0'39435	0'39617	0'39796	0'39973	0'40147
1'3	0'40320	0'40490	0'40658	0'40824	0'40988	0'41149	0'41308	0'41466	0'41621	0'41774
1'4	0'41924	0'42073	0'42220	0'42364	0'42507	0'42647	0'42786	0'42922	0'43056	0'43189
1'5	0'43319	0'43448	0'43574	0'43699	0'43822	0'43943	0'44062	0'44179	0'44295	0'44408
1'6	0'44520	0'44630	0'44738	0'44845	0'44950	0'45053	0'45154	0'45254	0'45352	0'45449
1'7	0'45543	0'45637	0'45728	0'45818	0'45907	0'45994	0'46080	0'46164	0'46246	0'46327
1'8	0'46407	0'46485	0'46562	0'46638	0'46712	0'46784	0'46856	0'46926	0'46995	0'47062
1'9	0'47128	0'47193	0'47257	0'47320	0'47381	0'47441	0'47500	0'47558	0'47615	0'47670
2'0	0'47725	0'47778	0'47831	0'47882	0'47932	0'47982	0'48030	0'48077	0'48124	0'48169
2'1	0'48214	0'48257	0'48300	0'48341	0'48382	0'48422	0'48461	0'48500	0'48537	0'48574
2'2	0'48610	0'48645	0'48679	0'48713	0'48745	0'48778	0'48809	0'48840	0'48870	0'48899
2'3	0'48928	0'48956	0'48983	0'49010	0'49036	0'49061	0'49086	0'49111	0'49134	0'49158
2'4	0'49180	0'49202	0'49224	0'49245	0'49266	0'49286	0'49305	0'49324	0'49343	0'49361
2'5	0'49379	0'49396	0'49413	0'49430	0'49446	0'49461	0'49477	0'49492	0'49506	0'49520
2'6	0'49534	0'49547	0'49560	0'49573	0'49585	0'49598	0'49609	0'49621	0'49632	0'49643
2'7	0'49653	0'49664	0'49674	0'49683	0'49693	0'49702	0'49711	0'49720	0'49728	0'49736
2'8	0'49744	0'49752	0'49760	0'49767	0'49774	0'49781	0'49788	0'49795	0'49801	0'49807
2'9	0'49813	0'49819	0'49825	0'49831	0'49836	0'49841	0'49846	0'49851	0'49856	0'49861
3'0	0'49865	0'49869	0'49873	0'49877	0'49881	0'49885	0'49889	0'49893	0'49896	0'49899
3'1	0'49903	0'49906	0'49909	0'49912	0'49915	0'49918	0'49921	0'49923	0'49926	0'49929
3'2	0'49931	0'49933	0'49936	0'49938	0'49940	0'49942	0'49944	0'49946	0'49948	0'49950
3'3	0'49951	0'49953	0'49955	0'49956	0'49958	0'49959	0'49961	0'49962	0'49964	0'49965
3'4	0'49966	0'49967	0'49968	0'49970	0'49971	0'49972	0'49973	0'49974	0'49975	0'49976
3'5	0'49977	0'49977	0'49978	0'49979	0'49980	0'49981	0'49981	0'49982	0'49983	0'49983
3'6	0'49984	0'49985	0'49985	0'49986	0'49986	0'49987	0'49987	0'49988	0'49988	0'49989
3'7	0'49989	0'49990	0'49990	0'49990	0'49991	0'49991	0'49991	0'49992	0'49992	0'49992
3'8	0'49993	0'49993	0'49993	0'49994	0'49994	0'49994	0'49994	0'49995	0'49995	0'49995
3'9	0'49995	0'49995	0'49996	0'49996	0'49996	0'49996	0'49996	0'49996	0'49997	0'49997
4'0	0'49997	0'49997	0'49997	0'49997	0'49997	0'49997	0'49998	0'49998	0'49998	0'49998
4'1	0'49998	0'49998	0'49998	0'49998	0'49998	0'49998	0'49998	0'49998	0'49999	0'49999
4'2	0'49999	0'49999	0'49999	0'49999	0'49999	0'49999	0'49999	0'49999	0'49999	0'49999
4'3	0'49999	0'49999	0'49999	0'49999	0'49999	0'49999	0'49999	0'49999	0'49999	0'49999
4'4	0'49999	0'49999	0'49999	0'50000	0'50000	0'50000	0'50000	0'50000	0'50000	0'50000

ANEXO 11

PRESUPUESTO Y FINANCIAMIENTO

DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	PRECIO UNITARIO	PRECIO TOTAL
Impresiones	800	\$0.35	\$ 280
Internet	40 horas	\$1.00	\$40.00
Papel bond	100 paginas	\$0.01	\$10.00
Caja de Petri	86	\$0.20	\$17.20
Medio de cultivo Agar MacConkey	100 gramos	\$24	\$24.00
Medio de cultivo Agar sangre	100 gramos	\$26	\$26.00
Medio de transporte Amies	150 tubos	\$0.90	\$135
Caldo TS	100 gramos	\$15	\$15.00
Combustible	15 viajes	\$20	\$300.00
		Sub Total	\$846.20

ANEXO 12

DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

Aeróbico: Un organismo que requiere oxígeno o aire atmosférico para su crecimiento y reproducción.

Agentes biológicos: Microorganismos, con inclusión de los genéticamente modificados, cultivos celulares y endoparásitos humanos susceptibles de originar cualquier tipo de infección, alergia o toxicidad.

Bacteria: Microorganismo unicelular microscópico perteneciente a los procariontes que se multiplica por fisión binaria y carece de clorofila. Se diferencian por la coloración de Gram.

Bacteria Gramnegativa: Aquella bacteria que no retiene el colorante primario (violeta de genciana o cristal violeta) en el método de Gram, son decoloradas por el alcohol y toman el color del colorante contraste (safranina o fucsina) dando un color rojizo.

Bacteria Grampositiva: Aquellas bacterias que retienen el colorante primario del método de Gram, resisten la decoloración por el alcohol y no son coloreadas por el colorante de contraste reteniendo el color azul púrpura inicial.

Cepa bacteriana: Cultivo puro de bacterias formada por los descendientes de un solo aislamiento.

Colonia: Crecimiento visible de microorganismos, generalmente en medios sólidos, originado por la multiplicación de un solo organismo. Todos son la progenie de una única bacteria preexistente.

Coloración Gram: Método de tinción basado en la propiedad de retener o no el colorante cristal violeta en la pared celular bacteriana debido a su composición bioquímica después de ser sometido a un tratamiento de decoloración.

Contaminación: Presencia de un agente infeccioso en la superficie del organismo; también en vestimenta, ropa de cama, juguetes, instrumentos quirúrgicos, apósitos u otros objetos inanimados o sustancias, incluyendo el agua y los alimentos.

Cultivo celular: El resultado del crecimiento in vitro de células obtenidas de organismos multicelulares.

Daño: Es la consecuencia producida por un peligro sobre la calidad de vida individual o colectiva de las personas.

Desinfección: Eliminación de agentes infecciosos que están fuera del organismo por medio de la exposición directa a agentes químicos o físicos.

Esterilización: Destrucción de todas las formas de vida por calor, radiación, gas o tratamiento químico.

Flamear: mantener el asa en el área del mechero hasta que éste alcance un rojo incandescente.

Frotis: es una pequeña cantidad de cultivo bacteriano que se extiende sobre un Portaobjetos limpio y se fija al calor.

Inóculo: Alícuota de una muestra que es transferida a un medio de cultivo

Infección: Penetración y desarrollo (de múltiples parásitos) o multiplicación de un agente infeccioso en el organismo de personas o animales.

Limpieza: Eliminación, mediante fregado y lavado con agua caliente, jabón o un detergente adecuado, o por el empleo de una aspiradora, de agentes infecciosos y sustancias orgánicas de superficies en las cuales éstos pueden encontrar condiciones adecuadas para sobrevivir o multiplicarse.

Medio de cultivo: Medio artificial de sustancias nutritivas que puede ser sólido, semisólido o líquido, necesario para el crecimiento y multiplicación de las bacterias in vitro.

Microbiología: es la ciencia que estudia los microorganismos, sus actividades, forma, estructura, reproducción, fisiología, metabolismo e identificación, como están distribuidos en la naturaleza, sus relaciones con otros seres, los efectos benéficos y perjudiciales que ejercen sobre los humanos y las alteraciones físicas y químicas que provocan en su medio.

Microscopio: Herramienta básica para el desarrollo de la microbiología, pertenece a dos clases el óptico y el electrónico, proporcionando la amplificación, gracias a la cual el hombre es capaz de observar los microorganismos y estructuras que a simple vista sería imposible de ver.

Microorganismo: Toda entidad microbiológica, celular o no, capaz de reproducirse o de transferir material genético.

Patogenicidad: Característica de un agente infeccioso que rige la extensión o magnitud con la cual se manifiesta una enfermedad en una población infectada o la capacidad del microorganismo para producir enfermedad.

Peligro: Todo aquello que puede producir un daño o un deterioro de la calidad de vida individual o colectiva de las personas.

Período de incubación: Intervalo que transcurre entre la exposición inicial a un agente infeccioso y la aparición de síntomas de la enfermedad. En el caso de un vector, es el lapso que media entre el momento en que un microorganismo penetra en el vector y la fecha en que dicho vector transmite la infección (período de incubación extrínseco).

Riesgo: Probabilidad de que ante un determinado peligro se produzca un cierto daño, pudiendo por ello cuantificarse