


	GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS					  	
	DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO						
CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	1 de 3

TÍTULO COMPLETO DEL TRABAJO: Análisis bacteriológico de fómites en la Universidad Surcolombiana-sede central en la ciudad de Neiva, Huila

AUTOR O AUTORES:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Vargas Renza	Alexander
Rodríguez Orejuela	Hernán José

DIRECTOR Y CODIRECTOR TESIS:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Echeverry Hernández	Sonia

ASESOR (ES):

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Echeverry Hernández	Sonia

PARA OPTAR AL TÍTULO DE: Licenciado en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología.





FACULTAD: Educación.

PROGRAMA O POSGRADO: Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología.

CIUDAD: Neiva **AÑO DE PRESENTACIÓN:** 2016 **NÚMERO DE PÁGINAS:** 136

TIPO DE ILUSTRACIONES (Marcar con una X):

Diagramas X Fotografías X Grabaciones en discos ___ Ilustraciones en general X Grabados ___ Láminas ___
 Litografías ___ Mapas ___ Música impresa ___ Planos ___ Retratos ___ Sin ilustraciones ___ Tablas o
 Cuadros X

	GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS					  	
	DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO						
CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	2 de 3

SOFTWARE requerido y/o especializado para la lectura del documento:

MATERIAL ANEXO:

PREMIO O DISTINCIÓN: Meritoria





PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLÉS:

<u>Español</u>	<u>Inglés</u>
1. Extracción de ADN	DNA extraction
2. Fómites	Fomites
3. Morfotipos	Morphotypes
4. Patógenos	Pathogens
5. Salud pública	Public health

RESUMEN DEL CONTENIDO: (Máximo 250 palabras)

Este trabajo se realizó con el fin de caracterizar las bacterias presentes en los fómites de la Universidad Surcolombiana que pueden causar enfermedades en la comunidad universitaria; la recolección de las muestras se llevó a cabo de manera aleatoria en sitios como inodoros, lavamanos, orinales, mesones y mesas de cafeterías; para la identificación bacteriana se tuvo en cuenta la morfología celular y de colonia, así como pruebas bioquímicas y extracción de ADN.

De acuerdo con los resultados de las distintas pruebas, los microorganismos fueron clasificados según su patogenicidad para el ser humano, indicando sus posibles afectaciones a la salud. Teniendo en cuenta lo anterior, se elaboró una cartilla ilustrativa donde se exponen las diferentes especies encontradas, mencionando el lugar y frecuencia de su aislamiento, características principales, registros fotográficos, así como imágenes

	GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS					  	
	DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO						
CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	3 de 3

representativas de las enfermedades y/o beneficios que generan.

ABSTRACT: (Máximo 250 palabras)

This work was performed in order to characterize the bacteria present in the fomites at Universidad Surcolombiana that can cause disease in the university community; collection of samples was conducted randomly in places such as toilets, sinks, urinals, trattorias and cafeteria tables; for bacterial identification he was considered cell and colony morphology, biochemical tests and DNA extraction.

According to the results of the various tests, microorganisms were classified to their pathogenicity for humans, indicating their possible effects on health. Given the above, an illustrative magazine where different species found exposed was developed, mentioning the place and frequency of their isolation, main features, photographic records, as well as representative images of disease and / or benefits they generate.

APROBACION DE LA TESIS

Nombre Jurado: Piedad Marcela Perilla París





Firma:



Nombre Jurado: Elías Francisco Amórtegui Cedeño

Firma:



	GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS						  
	CARTA DE AUTORIZACIÓN						
CÓDIGO	AP-BIB-FO-06	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	1 de 2

Neiva, 15 de septiembre de 2016

Señores

CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

Ciudad

El (Los) suscrito(s):

Alexander Vargas Renza, con C.C. No. 1.083.895.368,

Hernán José Rodríguez Orejuela, con C.C. No. 1.075.275.307,

Autor(es) de la tesis y/o trabajo de grado

Titulado Análisis bacteriológico de fómites en la Universidad Surcolombiana-sede central en la ciudad de Neiva, Huila

Presentado y aprobado en el año 2016 como requisito para optar al título de Licenciado en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología;





Autorizo (amos) al CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN de la Universidad Surcolombiana para que con fines académicos, muestre al país y el exterior la producción intelectual de la Universidad Surcolombiana, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

Los usuarios puedan consultar el contenido de este trabajo de grado en los sitios web que administra la Universidad, en bases de datos, repositorio digital, catálogos y en otros sitios web, redes y sistemas de información nacionales e internacionales “open access” y en las redes de información con las cuales tenga convenio la Institución.

- Permita la consulta, la reproducción y préstamo a los usuarios interesados en el contenido de este trabajo, para todos los usos que tengan finalidad académica, ya sea en formato Cd-Rom o digital desde internet, intranet, etc., y en general para cualquier formato conocido o por conocer, dentro de los términos establecidos en la Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, Decreto 460 de 1995 y demás normas generales sobre la materia.

- Continúo conservando los correspondientes derechos sin modificación o restricción alguna; puesto que de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación del derecho de autor y sus conexos.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, “Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores”, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.

	GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS					  	
	CARTA DE AUTORIZACIÓN						
CÓDIGO	AP-BIB-FO-06	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	2 de 2

EL AUTOR/ESTUDIANTE: Alexander Vargas Renza

Firma:

Alex Vargas Renza

EL AUTOR/ESTUDIANTE: Hernán José Rodríguez Orejuela

Firma:

Hernán Rodríguez Orejuela

**ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE FÓMITES EN LA UNIVERSIDAD
SURCOLOMBIANA-SEDE CENTRAL EN LA CIUDAD DE NEIVA, HUILA**

**Autores: Alexander Vargas Renza
Hernán José Rodríguez Orejuela**

**UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE EDUCACIÓN
LICENCIATURA EN CIENCIAS NATURALES: FÍSICA, QUÍMICA Y BIOLOGÍA
NEIVA
2016**

**ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE FÓMITES EN LA UNIVERSIDAD
SURCOLOMBIANA-SEDE CENTRAL EN LA CIUDAD DE NEIVA, HUILA**

**Autores: Alexander Vargas Renza
Hernán José Rodríguez Orejuela**

TRABAJO DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE LICENCIADO EN
CIENCIAS NATURALES: FÍSICA, QUÍMICA Y BIOLOGÍA

Directora de tesis: Sonia Echeverry Hernández
Licenciada en Biología y Química
Magister en Microbiología

**UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE EDUCACIÓN
LICENCIATURA EN CIENCIAS NATURALES: FÍSICA, QUÍMICA Y BIOLOGÍA
NEIVA
2016**

Nota de Aceptación

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

Neiva, Fecha (13, Septiembre, 2016)

Yo, Hernán, dedico este trabajo a mis padres, mis hermanos y familiares por impulsarme cada día a cumplir la meta.

Yo, Alexander, dedico este trabajo a mis padres y en especial a mis abuelos quienes un día me vieron comenzar este camino y no lograron verme culminar, para ellos dos gracias infinitas y siempre estarán junto a mí.

AGRADECIMIENTOS

Después de terminar todas las fases del proyecto, queremos agradecer en primera instancia al programa Gestores de Conocimiento en convenio con la Universidad Surcolombiana y la Gobernación del Huila por haber financiado en su totalidad este trabajo de investigación. También queremos agradecer enormemente a la señora Fabiola Gómez, auxiliar de laboratorio de la Facultad de salud por todo su apoyo incondicional en la fase de laboratorio y su apoyo anímico durante todo el desarrollo del trabajo.

Queremos agradecer al Dr. Mauricio Carrillo Ávila por habernos permitido trabajar en su laboratorio de citogenética durante estos meses que duró la segunda fase del proyecto; además reconocer toda la ayuda incondicional de Luisa Paola Espinosa y de Wilson Cruz Flor ya que siempre estuvieron listos para brindarnos el mejor apoyo en el laboratorio.

Por último y no menos importante queremos agradecerle a la profesora Sonia Echeverry Hernández por todo su apoyo incondicional en el laboratorio y en las distintas asesorías que contribuyeron a mejorar el trabajo día a día.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	13
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	14
1.1.1 DEFINICIÓN	14
1.2 JUSTIFICACIÓN	15
1.3 OBJETIVOS	16
1.3.1 GENERAL	16
1.3.2 ESPECÍFICOS	16
1.4 MARCO TEÓRICO	17
1.4.1 ESTADO DEL ARTE	20
1.5 MATERIALES Y MÉTODOS	25
1.5.1 MATERIALES	25
1.5.2 METODOLOGÍA	25
1.6 DESARROLLO DEL PROYECTO	31
1.6.1 ANÁLISIS DEL DESARROLLO DEL PROYECTO	96
1.7 CRONOGRAMA	117
1.8 CONCLUSIONES	118
1.9 RECOMENDACIONES	119
1.10 BIBLIOGRAFÍA	120

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Antecedentes Internacionales	20
Tabla 2. Antecedentes Nacionales	23
Tabla 3. Flujo de personas.	31
Tabla 4. Recuento de colonias y morfotipos encontrados antes del aseo.	32
Tabla 5. Recuento de colonias y morfotipos antes y después del aseo de los baños.	33
Tabla 6. UFC/placa y morfotipos encontrados.	36
Tabla 7. Recuento de colonias y morfotipos antes y después del aseo de los baños.	37
Tabla 8. Descripción de la morfología de colonias durante el primer muestreo.	41
Tabla 9. Descripción macroscópica de colonias segundo muestreo.	43
Tabla 10. Descripción de la morfología celular durante el primer muestreo.	59
Tabla 11. Descripción de la morfología celular del segundo muestreo.	77
Tabla 12. Identificación por pruebas bioquímicas (primer muestreo).	81
Tabla 13. Identificación por pruebas bioquímicas (segundo muestreo).	84
Tabla 14. Pruebas adicionales primer muestreo.	85
Tabla 15. Pruebas adicionales segundo muestreo.	87
Tabla 16. Géneros y especies primer muestreo.	88
Tabla 17. Géneros y especies segundo muestreo.	90
Tabla 18. Cantidad y calidad de ADN extraído.	92
Tabla 19. Pruebas bioquímicas <i>Bacillus</i> (García A. y M. Zamudio.1998)	100
Tabla 20. Pruebas bioquímicas <i>Clostridium</i> (García A. y M. Zamudio.1998).	103
Tabla 21. Características bioquímicas género <i>Listeria</i> (Sánchez et al, 2009).	104
Tabla 22. Características género <i>Neisseria</i> (Koneman, 2008)	106
Tabla 23. Características bioquímicas género <i>Staphylococcus</i> .	108
Tabla 24. Pruebas bioquímicas género <i>Klebsiella</i> (Koneman, 2008).	111
Tabla 25. Pruebas bioquímicas género <i>Pasteurella</i>	113
Tabla 26. Pruebas bioquímicas género <i>Micrococcus</i>	114

LISTA DE GRÁFICAS

	Pág.
Gráfica 1. Flujo de personas en baños de la institución	31
Gráfica 2. Recuento de colonias.	32
Gráfica 3. Recuento de colonias antes y después del aseo a los baños.	33
Gráfica 4. Morfotipos antes y después del aseo.	34
Gráfica 5. Formas bacterianas encontradas en el primer muestreo.	34
Gráfica 6. Morfotipos primer muestreo.	35
Gráfica 7. Recuento de colonias segundo muestreo.	36
Gráfica 8. Recuento de colonias después y antes del aseo.	37
Gráfica 9. Morfotipos encontrados antes y después del aseo.	37
Gráfica 10. Morfotipos encontrados en el segundo muestreo.	38
Gráfica 11. Morfotipos primer muestreo	59
Gráfica 12. Morfotipos segundo muestreo.	78
Gráfica 13. Géneros encontrados primer muestreo.	89
Gráfica 14. Especies encontradas primer muestreo.	89
Gráfica 15. Géneros encontrados segundo muestreo.	90
Gráfica 16. Especies encontradas segundo muestreo.	91
Gráfica 17. Porcentaje de aparición de géneros.	91
Gráfica 18. Porcentaje de aparición de especies.	92
Gráfica 19. Cantidad de ADN extraído (ng/μl).	93
Gráfica 20. Calidad de ADN extraído en las relaciones de absorbancia 260/280 y 260/230	93

LISTA DE IMÁGENES

	Pág.
Imagen 1. Toma de muestras con hisopo	26
Imagen 2. Medio de transporte en nevera.	27
Imagen 3. Siembra en placa con hisopo.	27
Imagen 4. Incubación a 37°C.	27
Imagen 5. Placa después de incubación durante 24 horas	28
Imagen 6. Obtención de cultivos puros.	28
Imagen 7. Medios de cultivo utilizados.	29
Imagen 8. Extracción de ADN bacteriano.	29
Imagen 9. Gel de agarosa al 1%, bandas nítidas representan el ADN con los diferentes protocolos evaluados.	94
Imagen 10. Divulgación con estudiantes del programa	94
Imagen 11. Divulgación con estudiantes de otros programas	95
Imagen 12. Divulgación con el personal de Aseo	95

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Tinción de Gram.	124
Anexo B. Pruebas bioquímicas.	125
Anexo C. Protocolos extracción de ADN.	129
Anexo D. Folleto de Divulgación de resultados	134

GLOSARIO

BATERÍA SANITARIA: Conjunto de artefactos sanitarios (inodoro, lavamanos, ducha y orinal), que deben ser construidos en material sanitario y que cumplan con las normas sanitarias vigentes [2]

CARGA BACTERIANA: Es el número y tipo de microorganismos viables presentes en un elemento determinado [1]

CONTAGIO: Transmisión de una enfermedad de un individuo enfermo a otro sano y puede realizarse por contacto mediato o inmediato (Rocha et al, 2004).

FÓMITE: Son objetos inanimados que son capaces de albergar microorganismos y propagar una infección (Ingraham et. Al, 1998).

MORFOTIPO: Cualquiera de un grupo de diferentes tipos de individuos de la misma población de bacterias (Rocha et al, 2004).

MICROBIOTA: Conjunto de microorganismos que se encuentran generalmente asociados a tejidos sanos (piel, mucosas, etc.) del cuerpo humano. Los microorganismos residen en estos lugares de forma más o menos permanente y en algunos casos realizan funciones específicas (Rocha et al, 2004).

PATOGENICIDAD: Es la capacidad intrínseca que posee un microorganismo para producir una enfermedad en un hospedero susceptible (Rocha et al, 2004).

SANITIZACIÓN: Reducción de la carga microbiana que contiene un objeto o sustancia a niveles seguros para la población [1]

RESUMEN

Este trabajo se realizó con el fin de caracterizar las bacterias presentes en los fómites de la Universidad Surcolombiana que pueden causar enfermedades en la comunidad universitaria; la recolección de las muestras se llevó a cabo de manera aleatoria en sitios como inodoros, lavamanos, orinales, mesones y mesas de cafeterías; para la identificación bacteriana se tuvo en cuenta la morfología celular y de colonia, así como pruebas bioquímicas y extracción de ADN.

De acuerdo con los resultados de las distintas pruebas, los microorganismos fueron clasificados según su patogenicidad para el ser humano, indicando sus posibles afectaciones a la salud. Teniendo en cuenta lo anterior, se elaboró una cartilla ilustrativa donde se exponen las diferentes especies encontradas, mencionando el lugar y frecuencia de su aislamiento, características principales, registros fotográficos, así como imágenes representativas de las enfermedades y/o beneficios que generan.

Palabras clave: Fómites, morfotipos, patógenos, salud pública, extracción de ADN

INTRODUCCIÓN

El primer inodoro fue patentado y fabricado hacia la década de 1770 en Inglaterra; si bien, en un principio suponía un avance frente a orinales y letrinas, sucedió todo lo contrario pues los desechos de estos últimos se recogían en pozos negros, lo que ofrecía cierto control frente a esos residuos, mientras que los primeros inodoros instalados vertían sus aguas a los ríos y luego esa misma agua era reenviada por los acueductos hacia la ciudad, por lo tanto, cuando se introdujo el uso de inodoros en Europa, produjeron un efecto contrario al esperado, pues aumentó el riesgo de contraer enfermedades como el cólera y la fiebre tifoidea. Después de muchos debates sobre los causantes de esas enfermedades, finalmente se estableció que en el agua que se consumía, habitaban microorganismos y no fue sino hasta el siglo XIX, que en base a ese descubrimiento se introdujo la reforma sanitaria (Ingraham *et. Al*, 1998).

Tal como lo indica Flores (2011), los baños públicos son un reservorio importante para diferentes bacterias, principalmente, pertenecientes a 4 filos: Actinobacteria, Bacteroides, Firmicutes o Proteobacteria, se encuentran microorganismos asociados a la flora de la piel de humanos, por ejemplo: Propionibacterias, Corynebacterias, Estafilococos y Streptococos que son abundantes en todas las superficies de estos sitios. Esa flora asociada a la piel, tiene la característica de sobrevivir durante largos periodos de tiempo en dichas superficies. Además de eso, también se encuentran bacterias asociadas al tracto gastrointestinal y la orina, es decir, en términos generales, los microorganismos encontrados en los baños públicos, provienen del ser humano.

Las técnicas utilizadas en la presente investigación, si bien son tradicionales, suponen una forma eficaz para la caracterización de las bacterias que habitan los diferentes sitios analizados; los métodos de extracción de ADN evaluados sugieren que en cuanto a eficiencia y costos, resulta más factible la utilización de un método manual. Estas técnicas de extracción de ADN y de amplificación por PCR ayudan a que se identifique con una mayor precisión cada una de las bacterias que habitan estos lugares, reduciendo en gran medida la posibilidad de equivocaciones a la hora de realizar la identificación bacteriana.

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuáles son los tipos de bacterias que están presentes en fómites como los inodoros, los lavamanos, mesas y mesones de la cafetería? y ¿cuál es su capacidad para generar contagio en las personas de la sede central de la Universidad Surcolombiana que hacen uso de ellos?

La sede central de la Universidad Surcolombiana, está ubicada en el Municipio de Neiva Departamento del Huila y es el principal centro de estudios de dicho departamento, donde conviven diariamente miles de estudiantes matriculados en esta institución. Esta investigación tiene como propósito aislar y caracterizar las bacterias presentes en fómites de dicha institución, específicamente en su sede central, aportando al estudio de microorganismos patógenos presentes en superficies inanimadas, además de otros sitios de gran afluencia de personas. Este problema corresponde a una necesidad social que debe investigarse ya que involucra de manera directa la salud pública; proporcionará información acerca de los lugares donde habitan microorganismos potencialmente perjudiciales para la salud humana; los beneficiarios serán todas las personas que concurren dichos espacios. Se quiere generar conciencia sobre los hábitos de higiene en la comunidad y luego sí promover cambios actitudinales, ya que existen varias maneras de prevenir enfermedades relacionadas con estos microorganismos así como presentar los resultados al personal de servicios generales con el fin de que se tomen algunas medidas de asepsia, en caso de ser necesarias. Finalizada la investigación, se espera generar en la comunidad universitaria una reflexión acerca de la gran importancia que tienen los correctos hábitos de higiene; si bien la importancia de éstos son de público conocimiento y de gran preocupación por parte de las autoridades de salud a nivel mundial, las personas, desafortunadamente, no llevan a la práctica de manera completa y correcta estas recomendaciones.

1.2 JUSTIFICACIÓN

Los seres humanos con mucha frecuencia interactúan con lugares como el baño (inodoro), lavamanos, cafetería y pasamanos, sin saber que al tocar estos sitios están conviviendo con millones de bacterias que pueden ser perjudiciales para su salud. A diario se está acompañado de millones de bacterias que se encuentran presentes en el aire, suelo y agua pero no se ha puesto a pensar que cualquiera de ellos puede ser una amenaza para todos los seres humanos de la tierra; para poder saber si los microorganismos de los cuales se está rodeado son patógenos o no patógenos, se requiere hacer una investigación que tenga como fin aislar y caracterizar los microorganismos presentes en los ambientes inanimados o fómites de sitios públicos, que para el caso es la Universidad Surcolombiana sede central. Las posibles enfermedades causadas en el hombre por este tipo de contacto llevan a querer averiguar la morfología para poder identificar el tipo de microorganismo y así decir si pueden llegar a ser perjudiciales para la salud de los seres o no. Los resultados de la investigación, serán de uso público a nivel nacional e internacional, ya que se convierte en un marco referencial para las investigaciones futuras en este tema además de que será un recurso didáctico para la prevención de enfermedades en salud pública, tema que es de alta prioridad para las entidades encargadas de velar por la salud de los habitantes de cualquier país; esto se ve reflejado en las múltiples campañas promovidas por la Organización Mundial de la Salud y por ende los Ministerios de Salud correspondientes y en Colombia el Instituto Nacional de Salud.

Para la licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología, el impacto a parte del ya mencionado, se centra en la consecución de material de revisión bibliográfica, pues es una temática de interés para plantearla y abordarla en las aulas de clase, así como para usarla en el desarrollo del curso de microbiología.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Realizar un análisis bacteriológico en fómites de la Universidad Surcolombiana, sede central en la ciudad de Neiva- Huila durante el periodo comprendido entre el año 2015 y 2016.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar las bacterias presentes en baños y cafeterías, como áreas de mayor afluencia de personas en la Universidad Surcolombiana.

Establecer la relación existente entre los microorganismos con las enfermedades más comunes que ellos producen.

Establecer una relación entre el número de personas y carga microbiana, comparando los sitios muestreados que presentan mayor afluencia de personas con otros de menor afluencia de personal.

Valorar la eficacia de las maniobras de aseo de los sitios analizados mediante muestreos previos y posteriores a dichas labores.

Plantear una estrategia didáctica que promueva hábitos de higiene en la comunidad universitaria con el fin de prevenir enfermedades transmitidas por fómites.

1.4 MARCO TEÓRICO

Se entiende que los fómites *“son objetos inertes que pueden contaminarse con estiércol, sangre, orina, saliva o fluidos fetales. De no usarlos o limpiarlos entre usos, al entrar en contacto con el siguiente animal o con una persona, estos objetos podrían contagiarlos de alguna enfermedad”*, según el Centro para la Seguridad Alimenticia y la Salud Pública (sf). Después de tener claro este concepto es importante tener en cuenta que la bioseguridad *“es el conjunto de medidas preventivas que tienen por objeto eliminar o minimizar el factor de riesgo biológico que pueda llegar a afectar la salud, el medio ambiente o la vida de las personas”* (Colombia. Ministerio de Protección Social 2006). Otro de los conceptos que se maneja en esta investigación es el de sanitización que *“es la reducción de la carga microbiana que contiene un objeto o sustancia a niveles seguros para la población”* (Colombia. Ministerio de Protección Social, 2006). Este concepto es importante ya que dependiendo de lo que se encuentre en los muestreos y posteriores análisis, se ofrecerá una charla al personal de aseo con el fin de mejorar la asepsia en estos lugares para así evitar las posibles enfermedades que allí se encuentren.

Ahora se debe tener en cuenta que una bacteria es un microorganismo unicelular que puede vivir en condiciones extremas o normales donde su desarrollo puede ser muy rápido, de acuerdo con Audesirk G. (2003) *“Las bacterias son organismos unicelulares procariontes, esto quiere decir que están formados por una sola célula carente de núcleo. Su ácido desoxirribonucleico (ADN) se encuentra libre en el citoplasma y no tienen orgánulos, como mitocondrias, cloroplastos o aparato de Golgi”*. Esta célula tiene diversas morfologías o formas como ser circulares y/o alargadas, también dependiendo como se agrupan se puede identificar por lo menos su familia; las primeras son las de forma circular a las cuales se les llama cocos y dependiendo su agrupación se llaman diplococos, estreptococos y estafilococos, así como lo dice Fernández Del Barrio et al (1994) *“los cocos se agrupan en parejas (diplococos), en cadenas más o menos largas (estreptococos), en racimos (estafilococos) y en tétradas o en paquetes cúbicos (micrococos)”*. La segunda morfología que se caracteriza por ser alargada es llamada bacilo que cuando se agrupan se pueden llamar Diplobacilos y Estreptobacilos, normalmente. Montoya (2008) afirma que *“cuando se conforman en parejas se les llama*

Diplobacilos, en cadenas Estreptobacilos y en grupos irregulares que forman rosetas y masas.

En cuanto a la morfología bacteriana, lo anterior distingue muy bien los diferentes grupos que se pueden encontrar, pero para poder llegar a una primera identificación se debe tener en cuenta la tinción de Gram ya que este colorante sirve para diferenciar las bacterias dependiendo de la coloración que tomen llamándose Gram negativas a las que toman un color fucsia y Gram positivas a las que toman un color azul oscuro, de acuerdo con Forbes (2009) *“la tinción fue creada por Hans Christian Gram a finales del siglo XIX y puede utilizarse para separar las bacterias en dos grupos que son los que captan el cristal violeta (Gram positivas) y las que pierden ese colorante por lavado con acetona (Gram negativas)”*.

Luego de conocer cómo es la morfología de las bacterias es importante saber cuáles enfermedades pueden llegar a causar estos fómites. Entre las enfermedades están *“el resfriado común causado por Rinovirus que se encuentra en superficies del hogar; por ejemplo, fiebre tifoidea producida por Salmonella typhi se encuentra por ejemplo en los cubiertos”* (Ingraham, 1998).

Otro grupo de enfermedades que se pueden evitar con un correcto lavado de manos, son las destacadas por el Ministerio de Salud como la enfermedad diarreica aguda, neumonía, enfermedades de la piel y de los ojos y parasitismo intestinal (Colombia. Ministerio de Salud y Protección Social, Colciencias, Universidad de Antioquia, 2013). Lo anterior es de gran importancia para esta investigación, ya que es de público conocimiento que la mayoría de personas que frecuentan las instalaciones de los baños de la Universidad, principalmente, no disponen de jabón para un correcto lavado de las manos al hacer uso de éstos, con lo cual este sitio se puede convertir en un foco de infección.

Según la división de salud pública de los servicios de salud y sociales de Delaware en EE.UU. hay una gran cantidad de enfermedades que pueden ser transmitidas por contacto directo o indirecto, entre las cuales están la varicela, el resfriado común, la conjuntivitis, hepatitis A y B, herpes simple, influenza, sarampión, mononucleosis, la quinta enfermedad, tosferina, neumonía bacteriana e infecciones de la piel. Esta división hace una serie de recomendaciones para prevenir estas enfermedades por transmisión y lo hacen de manera textual de la siguiente forma: *“La División de Salud Pública de Delaware (DPH) recomienda lavar las manos cuidadosa y frecuentemente como el mejor método para prevenir*

la transmisión de enfermedades. DPH también advierte que la desinfección regular de superficies expuestas al contacto como las manivelas de las puertas, tiradores de puertas, barandales, mesas, camas, sillas, tocadores, tazas, platos, utensilios de cocina, bandejas, instrumentos médicos, teclados, teléfonos, materiales de oficina o juguetes. El uso de barreras como guantes, mascarillas o condones puede ayudar a evitar la diseminación de organismos. Muchas infecciones pueden ser prevenidas con tan sólo mantenernos limpios y saludables.”

1.4.1 ESTADO DEL ARTE

La siguiente es una revisión bibliográfica de trabajos registrados para la presente temática, los cuales se exponen a modo de resumen en tablas:

INTERNACIONALES

Autor y Año	Titulo	Objetivos	Metodología	Conclusiones
(González et al, 2014)	Análisis bacteriológico de superficies inertes. Veracruz, México	Analizar microorganismos presentes en las superficies inertes, que representen un riesgo para la salud de los estudiantes	Estudio observacional, exploratorio y transversal realizado en el periodo febrero- julio de 2012. Los puntos de obtención de muestra fueron los laboratorios de enseñanza 2, 3, 4, 5A y 5B. Las superficies inertes muestreadas aleatoriamente fueron 25 mesas, 20 charolas y 27 microscopios. Se aplicó el método del hisopo con plantillas de aluminio estériles de 25x25 centímetros. La siembra inicial se realizó en caldo de soya y tripticaseína agar métodos estándar, agar sangre de carnero y agar Dextrosa Sabouraud; a las 24 horas de incubación se resembró en los medios selectivos agar MacConkey, agar Salmonella-Shigella, agar sal y manitol y agar Biggy. La identificación bacteriológica se llevó a cabo con base en lo propuesto bioquímicamente por el manual de Bergey9 y se realizaron pruebas serológicas para la tipificación de las especies de <i>Salmonella</i> .	Las superficies inertes tienen un riesgo mínimo de transmitir directamente una infección, éstas contribuyen de manera importante en la contaminación cruzada secundaria al entrar en contacto con superficies vivas como piel, boca, nariz o garganta o con otras superficies inertes. Así pues, la contaminación bacteriana y micológica de mesas y microscopios constituye un riesgo para la salud de los alumnos que realizan prácticas escolares en los laboratorios de enseñanza.
(González et al, 2007)	Monitoreo bacteriológico de áreas clínicas odontológicas: estudio preliminar de un quirófano.	Evaluar la carga bacteriana y la presencia de patógenos como <i>Pseudomonas</i> sp, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Acinetobacter</i> sp. en el quirófano A (Cátedra de Anestesiología y Cirugía	Se realizó un muestreo antes y uno después de cada una de las tres cirugías escogidas aleatoriamente en el quirófano A. Las muestras de superficie (agarradera de la lámpara, manguera de succión, rejilla metálica del aire acondicionado y brazo de la	Los resultados obtenidos destacan la necesidad de adecuar la infraestructura, evaluar las normas de limpieza y desinfección aplicadas e implementar programas de monitoreo ambiental con vigilancia epidemiológica, para disminuir el riesgo de adquirir infecciones en la práctica odontológica general, así mismo destaca la importancia de la actualización constante y el entrenamiento adecuado del personal

	Caracas, Venezuela	Estomatológica, Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes)	unidad) fueron obtenidas por hisopado; y la del medio ambiente, con una placa de Agar Trypticosa Soya con Lecitina y Tween 80 (TSLT80, HiMedia) abierta sobre la bandeja de instrumentos. Los hisopos fueron introducidos en tubos de ensayo con medio Stuart (HiMedia) para su transporte hasta el Laboratorio, donde se inocularon las placas de TSLT80 según la técnica para semicuantificación bacteriana; y posteriormente fueron introducidos en tubos con Caldo de Infusión Cerebro Corazón (BHI, DIFCO) para enriquecer la presencia de patógenos. Todas las placas y tubos fueron incubados a 37 °C, evaluando el crecimiento a las 24, 48 y 72 horas (1, 21, 22). En cada cultivo en TSLT80 se estimó semicuantitativamente la carga bacteriana. Los tubos de BHI que presentaron turbidez fueron subcultivados para recuperar los posibles patógenos. Todas las colonias fueron caracterizadas macroscópica y microscópicamente (tinción de Gram), diferenciándolas para su posterior reaislamiento e identificación por pruebas bioquímicas y metabólicas convencionales.	de limpieza para aplicar los protocolos de desinfección más apropiados.
(Flores et al, 2011)	Biogeografía microbiana en las superficies de los baños públicos.	Determinar la composición de las comunidades microbianas asociadas a las superficies de los baños comunes.	Con el fin de describir exhaustivamente la diversidad microbiana de ambientes interiores, que se encuentran en las superficies de doce baños públicos	Estos resultados demuestran que las superficies de los baños acogen diversas comunidades microbianas dominadas por bacterias asociadas a humanos con vínculos claros entre las comunidades que se encuentran en las superficies de los baños y

	Colorado USA	Comprobar si las diferentes superficies albergan diversas comunidades bacterianas. Establecer las fuentes de bacterias en ambientes de baños y la forma como éstas fuentes varían según los lugares específicos dentro de los baños	(seis hombres y seis mujeres) en Colorado, EE.UU, se usó la secuenciación con el primer 16 S rRNA. En comparación con otros ambientes interiores, baños públicos ofrecen un entorno único para explorar la diversidad microbiana debido a las actividades que tienen lugar allí y la alta frecuencia de uso por personas con diferentes rutinas higiénicas. Estas características hacen que los humanos sean propensos a tener una fuerte influencia en los tipos de bacterias observadas en las superficies de los baños.	en los diferentes sitios del cuerpo. Este trabajo es relevante para el campo de la salud pública porque los microbios que se encuentran comúnmente en las superficies de los baños sugieren que los patógenos bacterianos fácilmente podrían transmitirse entre individuos por el tacto de las superficies.
(Revista Hospimédica en Español, sf)	Baños contaminados con bacterias resistentes. Detroit USA	Determinar si las bacterias existentes en los lavamanos de los Hospitales eran resistentes a los fármacos	Investigadores en la Universidad Estatal de Wayne (Detroit, MI, USA) seleccionaron aleatoriamente 53 hospitales en los Estados Unidos y Canadá, a los que les examinaron los lavamanos en busca de bacterias usando un cultivo con escobillón húmedo. Un laboratorio central analizó la presencia de bacilos Gram-negativos, <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la meticilina (SARM) y <i>Enterococcus</i> resistente a la vancomicina (ERV)	Los lavamanos de los baños nunca se deben compartir entre los pacientes. Si está examinando una herida o un dispositivo, como una línea que está en una vena del paciente, debe lavarse las manos después de tocar el lavamanos, aún si es el lavamanos del propio paciente, ya que estos representan importantes reservorios de microbios.

Tabla 1. Antecedentes Internacionales

NACIONALES

Autor y Año	Titulo	Objetivos	Metodología	Conclusiones
(Rodríguez, 2009)	Monitoreo microbiológico de aire, superficies y manos del personal asistencial en entidades de salud en el departamento del Meta en el año 2007	<p>General Cuantificar Bacterias gram positivas, Bacterias gram negativas y Hongos mediante monitoreo microbiológico de aire, superficies y manos del personal asistencial en cinco entidades de salud del departamento del Meta en el año 2007.</p> <p>Específicos Describir las entidades de la salud del Meta, según su grado de complejidad. Cuantificar la carga microbiana del aire de Zonas Críticas y No críticas en cinco entidades de salud del departamento del Meta. Evaluar microbiológicamente la efectividad y ejecución de los protocolos de limpieza y desinfección de superficies horizontales en cinco entidades de salud del departamento del Meta. Describir flora microbiana antes y después del lavado de manos de los trabajadores de la salud en cinco entidades de salud del departamento del Meta, como indicador de eficacia.</p>	<p>El estudio se desarrolló en entidades de salud del departamento del Meta, generadoras de residuos hospitalarios y similares (RHS) que contratan sus servicios de recolección, transporte y disposición final de los mismos con una empresa encargada de la gestión externa de RHS que lleva a cabo el acompañamiento al Programa de Control y Prevención de Infecciones Intrahospitalarias (IIH), con el fin de entregar un valor agregado a sus grandes clientes. Se contó con la autorización previa de las entidades participantes y de la entidad financiadora.</p> <p>Se realizó un muestreo por conveniencia tomando como unidad muestral las cinco entidades con mayor generación de RHS (38%) en el departamento del Meta en el año 2007. Se tomaron muestras de 13 servicios así: áreas críticas en 4 servicios: Dos salas de cirugía y dos unidades de cuidado intensivo y áreas no críticas en: Hospitalización 1, Hospitalización 2, Pediatría, Ginecología, Medicina Interna, Laboratorio, Urgencias 1, Urgencias 2 y Apoyo Diagnóstico. En cada servicio de área crítica se tomaron 2 muestras de aire, 1 de</p>	<p>Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la carga microbiana total antes del lavado de manos respecto a después de hacerlo. Así, es recomendable diseñar e implementar programas que mejoren la adhesión de los trabajadores de la salud a las recomendaciones sobre prácticas de higiene de las manos y generen verdadera conciencia de su importancia y sean vistas también como una medida de protección personal.</p>

			manos y 1 de superficie. En cada servicio de área no crítica se tomaron: 1 muestra de aire, 1 de manos y 1 de superficie	
--	--	--	--	--

Tabla 2. Antecedentes Nacionales

1.5 MATERIALES Y MÉTODOS

1.5.1 MATERIALES

Cajas de Petri, hisopos estériles, asas bacteriológicas curvas y rectas, tubos de vidrio, cámara de flujo horizontal, incubadora, refrigerador, agares (nutritivo, McConkey, EMB, SS, Sangre, TSI, SIM, Citrato de Simmons), caldos (nutritivo, tioglicolato, úrea), microscopios ópticos, tinción de Gram, reactivo de Kovács, Kits de extracción de ADN: PureLink® Genomic DNA Kit (USA), Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kit (USA), DNeasy® Blood & Tissue Kit de QIAGEN (Alemania), Gel de agarosa al 1%, espectrofotómetro nanodrop 2000 Thermo Scientific (USA), marcador de peso molecular (*Low DNA Mass Ladder*), amortiguador TE (100 mM Tris-HCl pH 8.0, 50 mM EDTA pH 7.0), transiluminador de UV, equipo foto-documentador (*E-Gel Imager gel documentation system (Invitrogen - Thermo Fisher Scientific)*), programa *GelQuant Express Analysis Software is a Windows*.

1.4.2 METODOLOGÍA

Este proyecto tiene una naturaleza cuantitativa en el sentido en que se van a cuantificar las unidades formadoras de colonias para cada uno de los fómites con los cuales se van a trabajar con el fin de conocer la carga microbiana presente en este ambiente inanimado, siendo éste de tipo experimental y básico. Dentro de esta naturaleza para ser más específicos, se puede decir que es un estudio descriptivo (Hernández et al 2006), porque se va a detallar la morfología de colonia y la de célula para cada una de las bacterias encontradas en los distintos muestreos, además de las reacciones propias de su metabolismo a partir de las pruebas bioquímicas trabajadas en este estudio.

Para escoger los sitios y el horario de muestreo, como los baños y lavamanos que tienen una mayor afluencia de público, se registró la cantidad de personas, tanto hombres como mujeres, que entraron a los baños de la Facultad de educación, del edificio de artes y de las facultades de ingeniería y economía en un lapso de tiempo de 30 minutos durante diferentes momentos del día, esto para establecer un flujo de personas aproximado y a su vez establecer cuáles de los lugares mencionados son más frecuentados y por tanto son de mayor interés para la presente investigación, así como un sitio poco frecuentado para establecer una

comparación con los sitios de mayor uso por parte de la comunidad universitaria. Otros sitios de muestreo, además de los ya mencionados, fueron algunos de los mesones y mesas de la cafetería. Se tomaron dos muestras de cada sitio de muestreo, una antes y una después de las maniobras de aseo efectuadas por el personal de servicios generales; en la cafetería se tomó una sola muestra de cada sitio debido a que en la misma no existe una labor de aseo sobre las superficies diferentes a los pisos, por lo cual la limpieza de las mismas es responsabilidad de cada uno de los sitios de venta de comidas que convergen en dicho sitio.

Las muestras se recolectaron con un hisopo estéril mediante la técnica de frotado (Imagen 1) mencionada por Moreno B. 2006, luego se trasladaron en un medio de transporte (caldo nutritivo) hasta el laboratorio de Microbiología (Imagen 2) para realizar la siembra en agar nutritivo por medio de la técnica de siembra en superficie en medio de cultivo general (Imagen 3) (Negroni M. 2009) y su respectiva incubación a 37°C durante 24 horas (Imagen 4). Una vez completado el periodo de incubación, se realizaron los recuentos de unidades formadoras de colonias por placa (UFC/placa) (Imagen 5) para la identificación y descripción de los diferentes morfotipos encontrados; luego se procedió a obtener un cultivo puro de cada una de ellos mediante la técnica de agotamiento por estrías (Imagen 6) (España E. 2005). Cada uno de los morfotipos se observaron de manera macroscópica (Prats G. 2008) y después se tiñeron mediante tinción de Gram lo que permitió una diferenciación entre bacterias Gramnegativas y Grampositivas mediante observación al microscopio óptico con objetivo de 100x.



Imagen 1. Toma de muestras con hisopo.

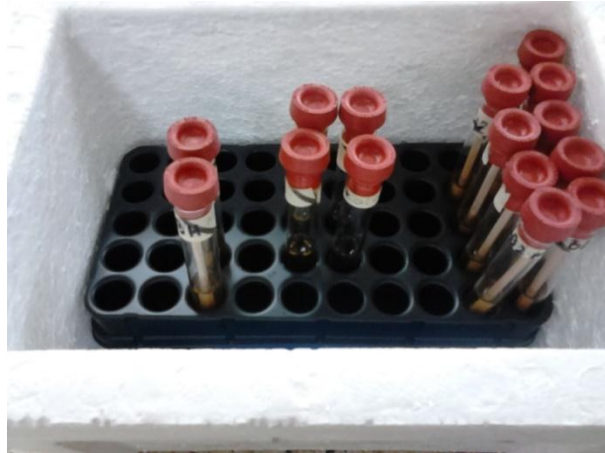


Imagen 2. Medio de transporte en nevera.



Imagen 3. Siembra en placa con hisopo.



Imagen 4. Incubación a 37°C.

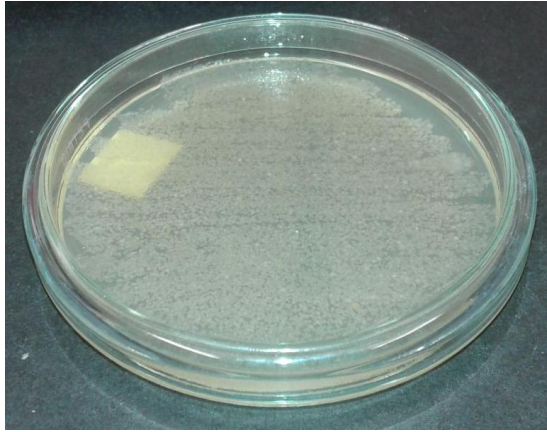


Imagen 5. Placa después de incubación durante 24 horas

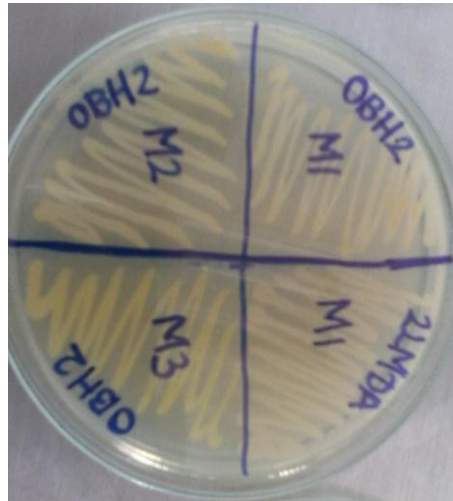


Imagen 6. Obtención de cultivos puros

Posterior a estas descripciones se realizaron una serie de pruebas bioquímicas entre las cuales están: Citrato de Simmons, Agar triple azúcar hierro (TSI), Manitol salado, Coagulasa, Catalasa, oxidasa, Caldo tioglicolato, medio sulfuro indol motilidad (SIM), Ureasa, además de evaluar su crecimiento en agar MacConkey, agar sangre, agar eosina azul de metileno (EMB), agar Salmonella-Shigella (S&S), según el caso (Imagen 7).

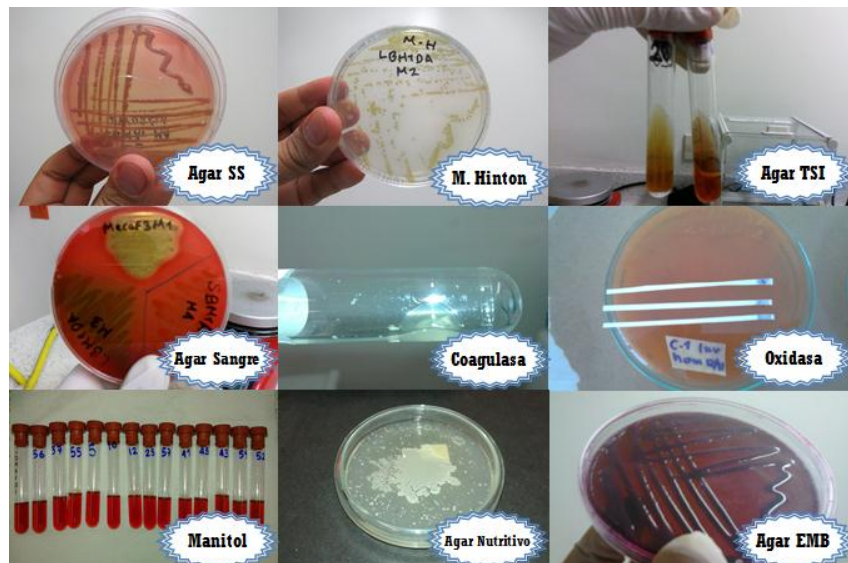


Imagen 7. Medios de cultivo utilizados

Una vez identificados cada uno de los morfotipos, se realizó extracción de ADN a los de mayor interés (Imagen 8), para su posterior mediante la técnica de PCR convencional, realizándose la verificación del ADN mediante la técnica de electroforesis horizontal en gel de agarosa al 1%, teñido con *syber green*, utilizando un marcador de peso molecular (*Ladder*) como referencia. La electroforesis corrió con amortiguador TE (100 mM Tris-HCl pH 8.0, 50 mM EDTA pH 7.0) por 1 h a 80 V. y visualizado en un transiluminador de UV, la imagen se almacenó en un equipo foto-documentador (*E-Gel Imager gel documentation system (Invitrogen - Thermo Fisher Scientific)*), utilizando el programa *GelQuant Express Analysis Software is a Windows*.

La extracción de ADN inicialmente se realizó con el fin de evaluar diferentes métodos de extracción que incluían tres kits comerciales: PureLink® Genomic DNA Kit (USA), Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kit (USA) y DNeasy® Blood & Tissue Kit de QIAGEN (Alemania), además de dos métodos manuales para dicho procedimiento: el método modificado de Pospiech y Neumann y el de Martín–Platero (Apéndice C).



Imagen 8. Extracción de ADN bacteriano

Para dicha evaluación se utilizaron dos muestras las cuales fueron evaluadas cada una, con los 5 métodos de extracción diferentes; para ello, se cultivaron en agar nutritivo por 24 horas, luego una asada del cultivo bacteriano fresco fue inoculado en 3ml de caldo nutritivo por 16 horas. Al cabo de ese tiempo de crecimiento, los tubos con caldo nutritivo fueron centrifugados a 13.000 r.p.m. y el botón celular que se precipitó fue recuperado y trasvasado a un tubo colector de 1.5ml; en adelante se realizó el proceso de extracción siguiendo los pasos establecidos para cada uno de los 5 protocolos evaluados (Anexo). Finalizada la extracción de ADN, se evaluó la cantidad y calidad del material extraído mediante análisis con espectrofotómetro nanodrop 2000 Thermo Scientific (USA). Además se realizó la verificación del ADN mediante la técnica de electroforesis horizontal en gel de agarosa al 1%, teñido con *syber green*, utilizando un marcador de peso molecular (*Low DNA Mass Ladder*), como referencia. La electroforesis corrió con amortiguador TE (100 mM Tris-HCl pH 8.0, 50 mM EDTA pH 7.0) por 1 h a 80 V. y visualizado en un transiluminador de UV, la imagen se almacenó en un equipo foto-documentador (*E-Gel Imager gel documentation system (Invitrogen - Thermo Fisher Scientific)*), utilizando el programa *GelQuant Express Analysis Software is a Windows*. Teniendo en cuenta los resultados, se eligió el mejor de los métodos evaluados y con él se efectuaron el resto de extracciones efectuadas.

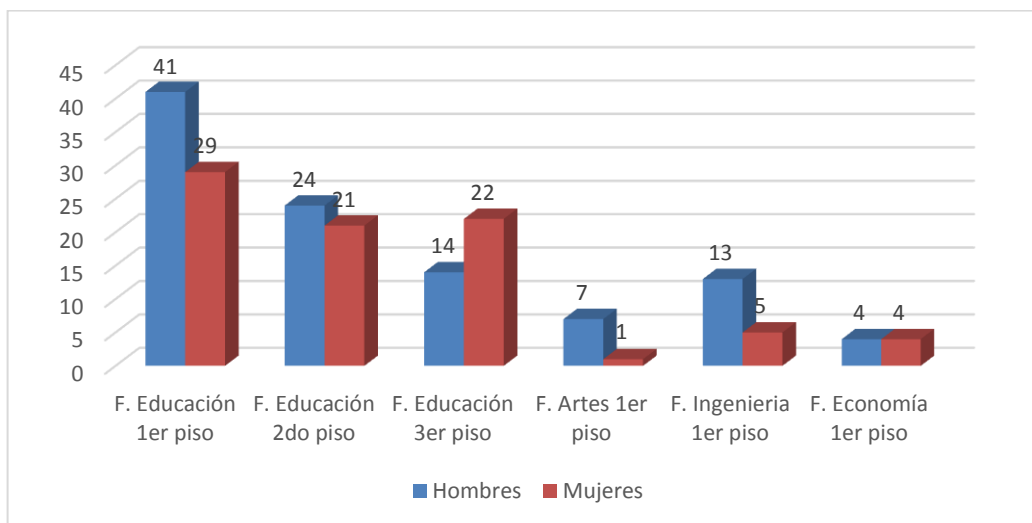
1.6 DESARROLLO DEL PROYECTO

1.6.1 Flujo de personas en los sitios de muestreo

Para escoger los sitios en los cuales se iban a realizar las muestras de los sanitarios, inodoros y lavamanos se realizó un conteo de las personas que entraban a los baños durante media hora. Se escogieron los que tenían un mayor flujo de personas y algunos de menor flujo para tomarlos como control. Los resultados fueron los siguientes:

Facultad	Lugar	Número de personas	
		Hombres	Mujeres
Educación	Baño 1er piso	41	29
	Baño 2do piso	24	21
	Baño 3er piso	14	22
Artes	Baño 1er piso	7	1
Ingeniería	Baño 1er piso	13	5
Economía	Baño 1er piso	4	4

Tabla 3. Flujo de personas



Gráfica 1. Flujo de personas en baños de la institución

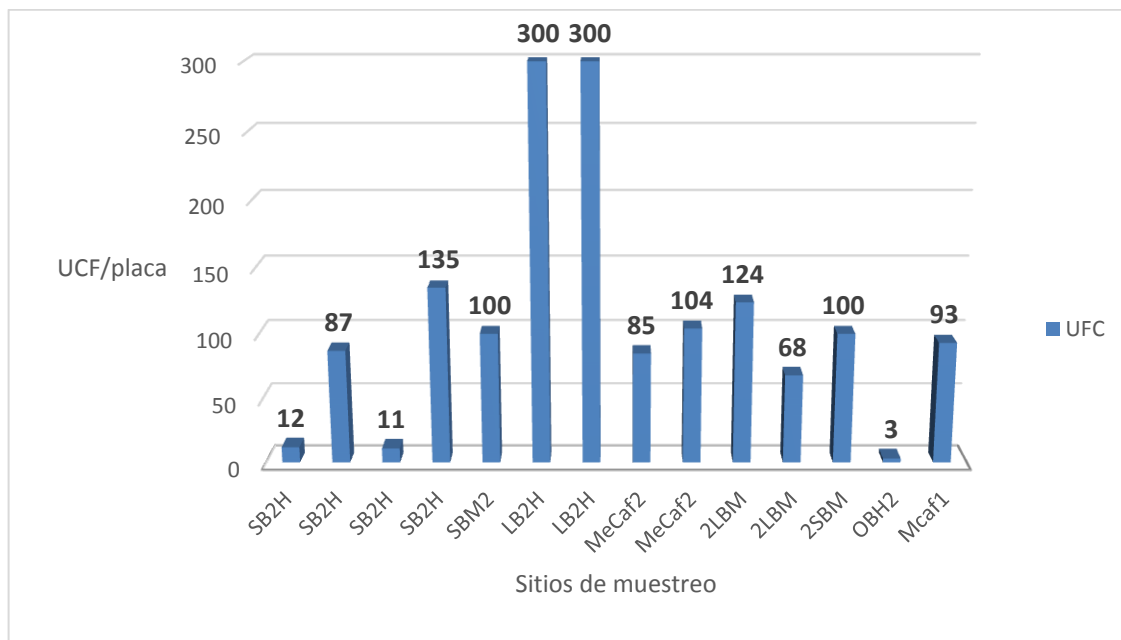
Recuento de colonias y número de morfotipos

Primer muestreo:

Los resultados que se presentan corresponden a muestras tomadas en las baterías sanitarias del segundo piso y en la cafetería de la sede central antes del aseo.

Sitio de muestreo	Código	Número de UFC/placa	Morfotipos
Sanitario baño de hombres	SB2H	12	4
Sanitario baño de hombres	SB2H	87	6
Sanitario baño de hombres	SB2H	11	6
Sanitario baño de hombres	SB2H	135	7
Sanitario baño de mujeres	SBM2	120	8
Lavamanos baño de hombres	LB2H	≥ 300 (incontables)	
Lavamanos baño de hombres	LB2H	≥ 300 (incontables)	2
Mesón de la cafetería	MeCaf2	85	7
Mesón de la cafetería	MeCaf2	104	8
Lavamanos baño de mujeres	2LBM	124	5
Lavamanos baño de mujeres	2LBM	68	3
Sanitario baño de mujeres	2SBM	140	10
Orinal baño de hombres	OBH2	3	3
Mesa de la Cafetería	Mcaf1	93	7

Tabla 4. Recuento de colonias y morfotipos encontrados antes del aseo



Gráfica 2. Recuento de colonias

Para poder comparar estos resultados, también se tomaron muestras después del aseo a los baños. Los resultados comparados con los anteriores se muestran en la siguiente tabla:

Sitio de Muestreo	Código	Antes del Aseo (AA)		Después del Aseo (DA)	
		UFC/placa	Morfotipos	UFC/placa	Morfotipos
Sanitario baño de hombres	SB2H	12	4	3	3
Sanitario baño de mujeres	SBM2	120	8	3	3
Sanitario baño de mujeres	2SBM	140	10	8	4
Lavamanos baño de hombres	LB2H	≥ 300 (incontables)	2	≥ 300 (incontables)	4
Lavamanos baño de mujeres	2LBM	124	5	≥ 300 (incontables)	3
Lavamanos baño de mujeres	2LBM	68	3	≥ 300 (incontables)	3

Tabla 5. Recuento de colonias y morfotipos antes y después del aseo de los baños

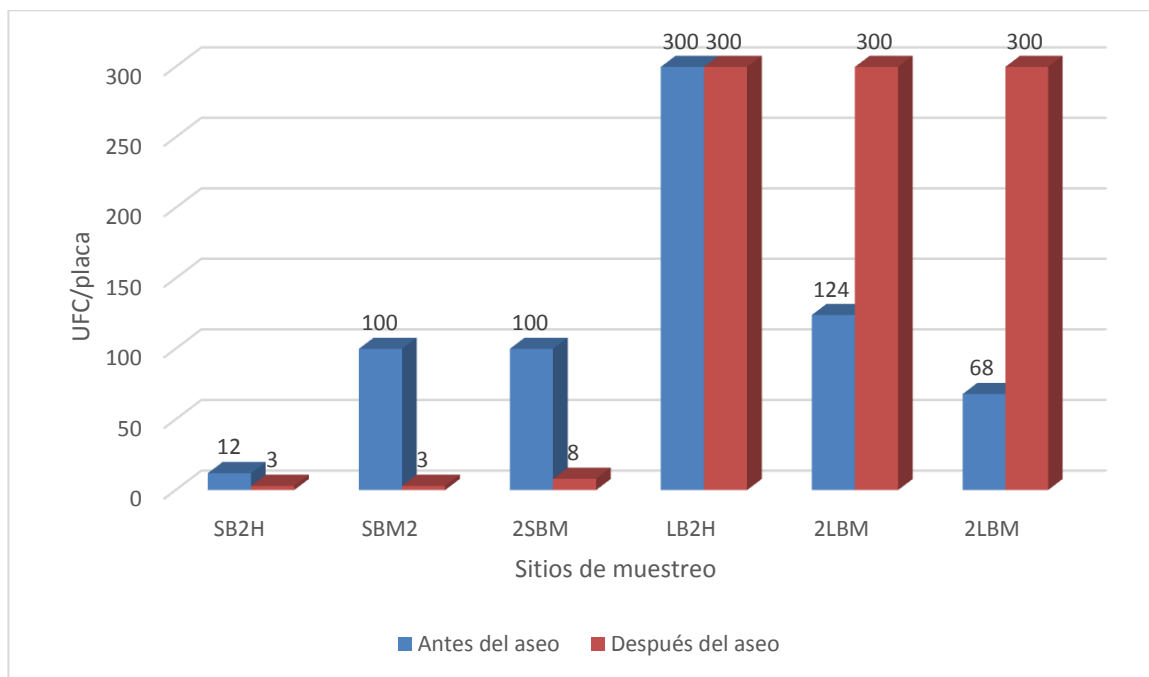
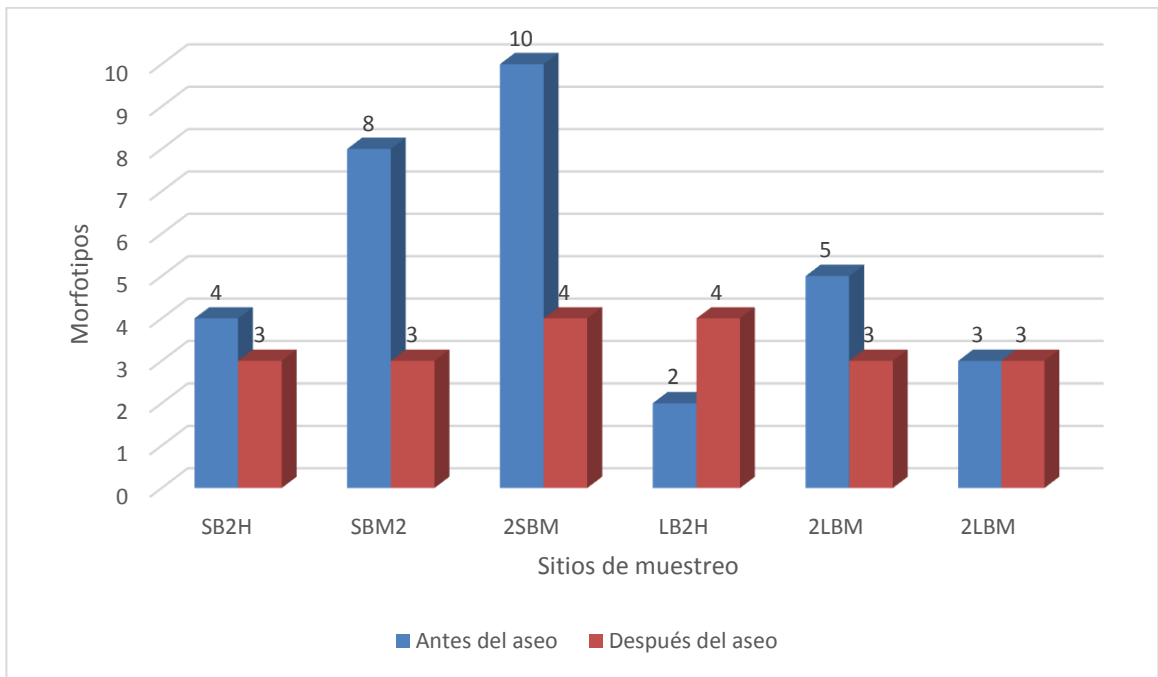
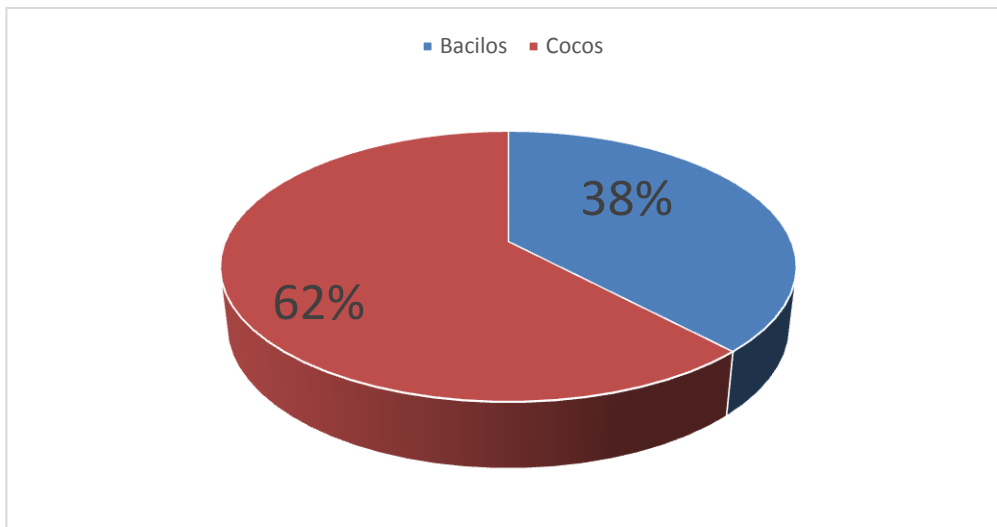


Gráfico 3. Recuento de colonias antes y después del aseo a los baños

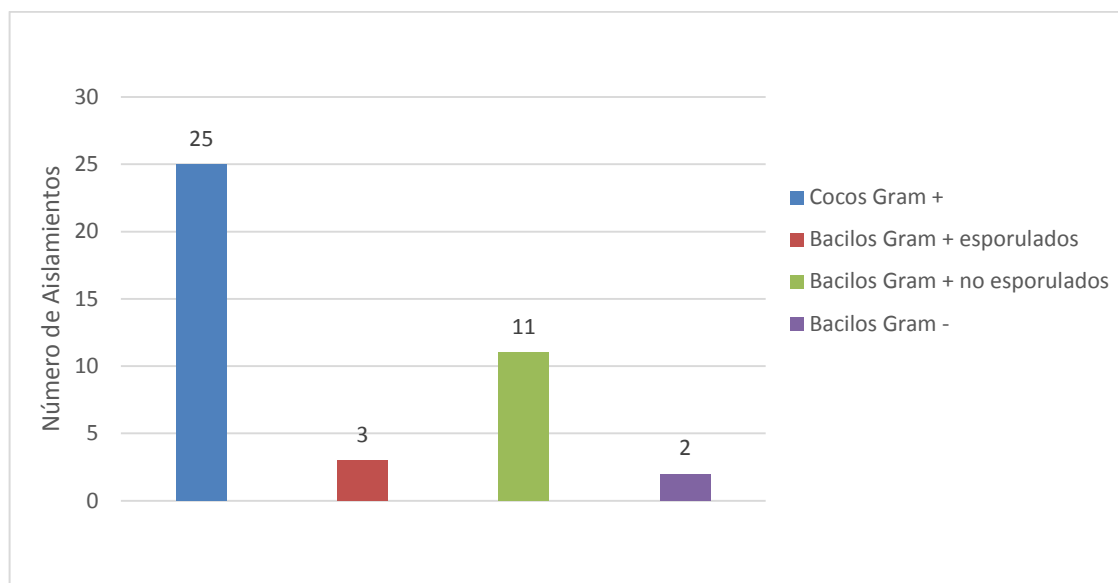


Gráfica 4. Morfotipos antes y después del aseo



Gráfica 5. Formas bacterianas encontradas en el primer muestreo

A continuación se observan los morfotipos encontrados en el primer muestreo



Gráfica 6. Morfotipos primer muestreo

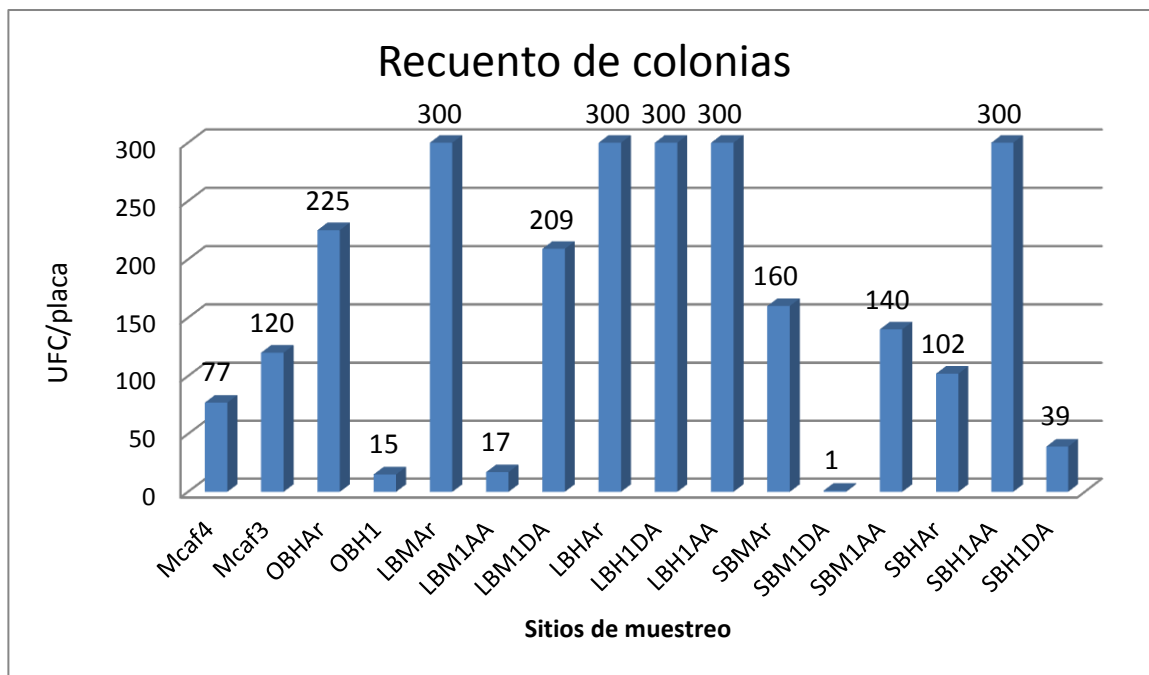
Segundo muestreo:

Para este caso, la toma de las muestras se hizo justo después del aseo en hora pico (1 p.m.) y dos horas después, cuando la gran cantidad de personas que circulan por la Universidad ha disminuido considerablemente (3 p.m.), esto con el fin de comparar la posible influencia de las personas en la carga bacteriana de estos sitios porque si bien el tránsito de personas haya disminuido después de dos horas los baños han sido utilizados

Sitios de Muestreo	Código	UFC/placa	Morfotipos
Sanitario baño de hombres	SBH1DA	39	4
Sanitario baño de hombres	SBH1AA	≥ 300 (incontables)	6
Sanitario baño de hombres (Edificio de artes)	SBHAr	102	4
Sanitario baño de mujeres	SBM1AA	140	4
Sanitario baño de mujeres	SBM1DA	1	1
Sanitario baño de mujeres (Edificio de artes)	SBMAr	160	4
Lavamanos baño de hombres	LBH1DA	≥ 300 (incontables)	3
Lavamanos baño de hombres	LBH1AA	≥ 300 (incontables)	4
Lavamanos baño de hombres (Edificio de artes)	LBHAr	≥ 300 (incontables)	4
Lavamanos baño de mujeres	LBM1DA	209	5
Lavamanos baño de mujeres	LBM1AA	17	2

Lavamanos baño de mujeres (Edificio de artes)	LBMAr	≥ 300 (incontables)	5
Orinal baño de hombres	OBH1	15	2
Orinal baño de hombres (Edificio de artes)	OBHAr	225	5
Mesa de la Cafetería	Mcaf3	120	8
Mesa de la Cafetería	Mcaf4	77	9

Tabla 6. UFC/placa y morfotipos encontrados



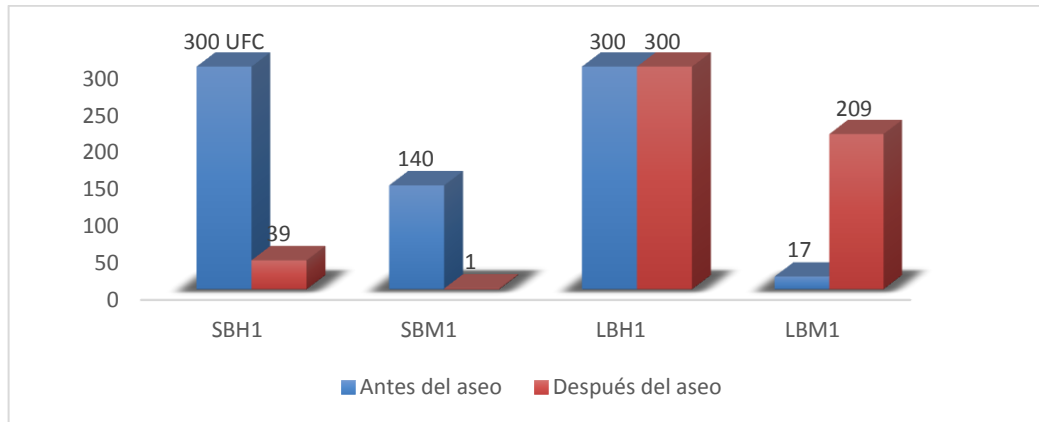
Gráfica 7. Recuento de colonias segundo muestreo

Para poder comparar estos resultados, también se tomaron unas muestras después que se le hizo el aseo a los baños. Los resultados comparados con los anteriores quedan así:

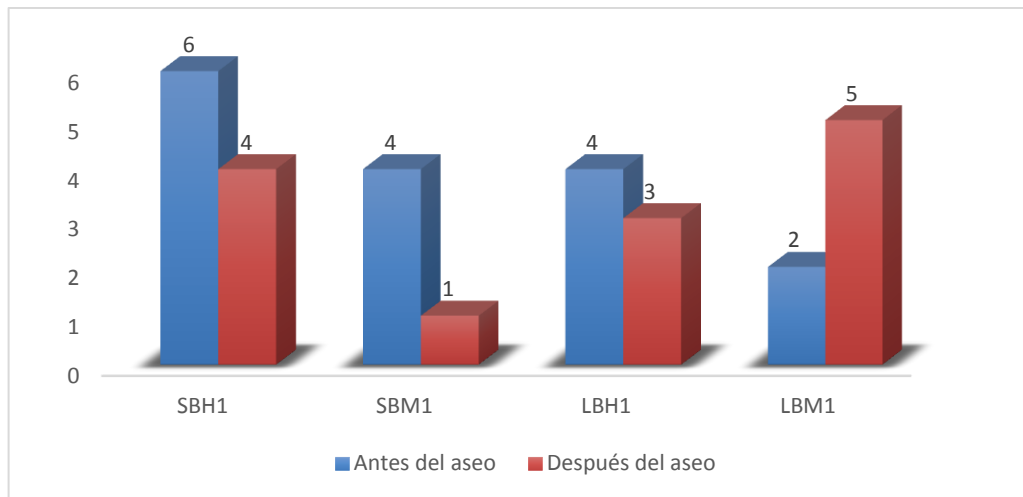
Sitio de Muestreo	Código	Antes del Aseo (AA)		Después del Aseo (DA)	
		UFC/placa	Morfotipos	UFC/placa	Morfotipos
Sanitario baño de hombres	SBH1	≥ 300 (incontables)	6	39	4
Sanitario baño de mujeres	SBM1	140	4	1	1
Lavamanos baño de hombres	LBH1	≥ 300 (incontables)	4	≥ 300 (incontables)	3

Lavamanos baño de mujeres	LBM1	17	2	209	5
---------------------------------	------	----	---	-----	---

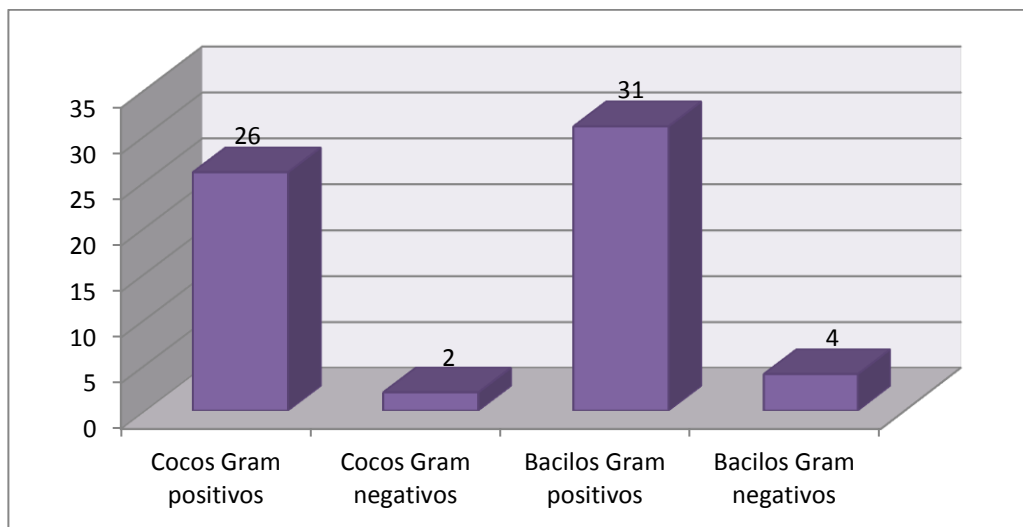
Tabla 7. Recuento de colonias y morfotipos antes y después del aseo de los baños



Gráfica 8. Recuento de colonias después y antes del aseo



Gráfica 9. Morfotipos encontrados antes y después del aseo



Gráfica 10. Morfotipos encontrados en el segundo muestreo

En la siguiente tabla se muestra la descripción de la morfología de colonia de los distintos morfotipos aislados de lugares como el sanitario, lavamanos, orinales, mesas y mesones de la cafetería. Todas las descripciones se hicieron mediante la observación directa de las colonias que crecieron en cada cultivo.

Descripción de la morfología de colonia

Primer muestreo:

Sitio de muestreo	Código	Aspectos de la morfología de colonia							
		Color	Forma	Elevación	Borde	Superficie	Densidad	Consistencia	Diámetro (mm)
Sanitario Baño de Mujeres	2SBMAA M13	Amarillo	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	2 mm
	SBM2AA M6	Blanco	Circular	Plana	Entero	Cerosa	Opaca	Cremosa	<1 mm
	2SBMAA M10	Amarillo- Beige	Irregular	Plana	Ondulado	Cerosa	Opaca	Cremosa	4 mm
	2SBMAA M11	Beige	Irregular	Convexa	Ondulado	Cerosa	Opaca	Cremosa	5 mm
	SBM2AA M1	Centro blanco con halo amarillo	Circular	Plana	Entero	Cerosa	Opaca	Cremosa	12 mm
	SBM2AA M2	Naranja muy claro	Irregular	Plana	Ondulado	Cerosa	Opaca	Pétrea	4 mm
	2SBMAA M9	Blanco	Circular	Plana	Entero	Cerosa	Opaca	Pétrea	< 1 mm
	SBM2AA M5	Naranja Claro	Circular	Umbiliforme	Entero	Cerosa	Opaca	Mucosa	6 mm

	SBM2AA M7	Naranja muy claro con centro blanco	Irregular	Plana	Ondulado	Cerosa	Opaca	Cremosa	4 mm
	2SBMAA M12	Beige con centro claro	Circular	Umbilicado	Entero	Cerosa	Opaca	Cremosa	2 mm
	2SBMAA M14	Naranja-Amarillo	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	2 mm
Orinal Baño de Hombres	OBH2 M1	Naranja claro con borde oscuro	Circular	Elevada	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	4 mm
	OBH2 M2	Naranja claro	Circular	Elevada	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	2 mm
	OBH2 M3	Amarillo	Circular	Elevada	Entero	Cerosa	Opaca	Cremosa	< 1 mm
Lavamanos Baño de Mujeres	2LMDA M1	Transparente	Circular	Elevada	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	15 mm
	2LMDA M2	Amarillo	Circular	Convexa	Entero	Cerosa	Opaca	Cremosa	4 mm
	2LMDA M3	Blanco	Circular	Plana	Entero	Cerosa	Opaca	Cremosa	1 mm
Sanitario Baño de Mujeres	2SMDA M3	Naranja en el centro con borde transparente	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	10 mm
	2SMDA M5	Amarillo	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	2 mm
	2SMDA M1	Blanco	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	2 mm
Lavamanos Baño de Hombres	2LBHDA M1	Beige	Irregular	Plana	Ondulado	Cerosa	Opaca	Mucosa	15 mm
	2LBHDA M2	Blanco	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	< 1 mm
Mesa de la Cafetería	Mcaf1 M3	Amarillo Claro	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	3 mm
	Mcaf1 M6	Transparente	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	13 mm
	Mcaf1 M5	Transparente	Irregular	Elevada	Aserrado	Cerosa	Opaca	Mucosa	5 mm
	Mcaf1 M2	Blanco	Circular	Plana	Entero	Cerosa	Opaca	Cremosa	< 1 mm
	Mcaf1 M7	Transparente	Circular	Plana	Entero	Cerosa	Opaca	Cremosa	< 1 mm
	Mcaf1 M4	Naranja	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	3 mm
Mesón de la Cafetería	Mecaf2 M9	Blanco	Irregular	Umbilicada	Ondulado	Cerosa	Opaca	Cremosa	5 mm
	Mecaf M4	Transparente	Irregular	Plana	Lobulado	Brillante	Transparente	Mucosa	14 mm
	Mecaf2 M10	Amarillo	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	3 mm

	Mecaf2 M12	Beige	Irregular	Plana	Ondulado	Brillante	Transparente	Cremosa	< 1 mm
	Mecaf M2	Amarillo	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	2 mm
	Mecaf2 M6	Naranja	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	4 mm
	Mecaf2 M8	Amarillo	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	1 mm
	Mecaf M1	Blanco	Irregular	Plana	Lobulado	Cerosa	Opaca	Mucosa	40 mm
	Mecaf2 M13	Naranja Claro	Circular	Plana	Entero	Cerosa	Opaca	Cremosa	3 mm
Lavamanos Baño de Mujeres	2LBMAA M2	Blanca	Circular	Umbeiforme	Entero	Cerosa	Opaca	Mucosa	< 1 mm
Sanitario Baño de Hombres	2SBHDA M4	Beige	Circular	Plana	Entero	Cerosa	Opaca	Cremosa	< 1 mm
	2SBHDA M1	Beige	Circular	Umbilicada	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	20 mm
	2SBHDA M3	Amarillo-Naranja con centro opaco	Circular	Umbilicada	Ondulado	Cerosa	Opaca	Pétrea	7 mm
Sanitario Baño de Hombres	SB2HAA (1) M8	Amarillenta al centro y amarillo oscuro al borde	Circular	Elevada	Entero	Cerosa	Opaca	Cremosa	5 mm
	SB2HAA M2	Beige	Irregular	Plana	Filamentoso	Cerosa	Opaca	Cremosa	18 mm
	SB2HAA(2) M8	Beige Claro	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	2 mm
	SB2HAA(3) M5	Blanco	Circular	Plana	Entero	Cerosa	Opaca	Cremosa	< 1 mm
	SB2HAA M4	Blanco	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	< 1 mm
	SB2HAA (3) M7	Beige	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	< 1 mm
	SB2HAA M3	Beige	Circular	Plana	Entero	Cerosa	Opaca	Cremosa	2 mm
	SB2HAA(3) M6	Beige	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	< 1 mm
	SB2HAA(1) M9	Beige	Circular	Umbilicada	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	2 mm
	SB2HAA (2) M10	Beige Claro	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	3 mm

	SB2HAA M1	Amarillo	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	< 1 mm
--	--------------	----------	----------	-------	--------	-----------	--------------	---------	--------

Tabla 8. Descripción de la morfología de colonias durante el primer muestreo

Segundo muestreo

Sitio de muestreo	Código	Aspectos de la morfología de colonia							
		Color	Forma	Elevación	Borde	Superficie	Densidad	Consistencia	Diámetro (mm)
Lavamanos Baño de Hombres Artes	LBHAr M1	Naranja	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	< 1 mm
	LBHAr M2	Beige	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	< 1 mm
	LBHAr M3	Beige	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	< 1 mm
	LBHAr M4	Beige	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Mucosa	< 1 mm
Sanitario Baño de Mujeres	SBM1AA M1	Beige	Irregular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	7 mm
	SBM1AA M2	Beige	Circular	Elevada	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	5 mm
	SBM1AA M3	Beige	Circular	Elevada	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	< 1 mm
	SBM1AA M4	Amarillo	Circular	Convexa	Entero	Cerosa	Opaca	Cremosa	1 mm
Orinal Baño de Hombres	OBH1 M1	Blanco	Circular	Plana	Entero	Cerosa	Opaca	Mucosa	1 mm
	OBH1 M2	Blanco	Puntiforme	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	< 1 mm
Lavamanos Baño de Mujeres	LBM1DA M1		Irregular	Umbonada	Escarolado	Cerosa	Opaca	Pétreo	7 mm
	LBM1DA M2	Beige	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	2 mm
	LBM1DA M3	Beige anaranjado con centro oscuro	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	2 mm
	LBM1DA M4	Beige anaranjado	Irregular	Umbonada	Ondulado	Cerosa	Opaca	Pétreo	5 mm
	LBM1DA M5	Beige	Circular	Plana	Entero	Cerosa	Opaca	Cremosa	1 mm
Lavamanos Baño de Hombres	LBH1DA M1	Amarillento	Puntiforme	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	1 mm
	LBH1DA M2	Beige	Irregular	Plana	Ondulado	Brillante	Transparente	Cremosa	30 mm
	LBH1DA M3	Amarillo-rojizo	Circular	Elevada	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	1 mm
Mesa de la Cafetería	MeCaf3 M1	Blanco	Rizoide	Plana	Filamentoso	Cerosa	Opaca	Mucosa	60 mm
	MeCaf3 M2	Blanco	Irregular	Plana	Ondulado	Brillante	Transparente	Cremosa	3 mm
	MeCaf3 M3	Blanco	Irregular	Plana	Entero	Cerosa	Opaca	Cremosa	2 mm
	MeCaf3 M4	Amarillento	Irregular	Plana	Ondulado	Brillante	Transparente	Cremosa	7 mm

	MeCaf3 M5	Blanco	Irregular	Plana	Lobulado	Cerosa	Opaca	Cremosa	10 mm
	MeCaf3 M6	Blanco	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	5 mm
	MeCaf3 M7	Blanco-amarillento	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	1 mm
	MeCaf3 M8	Amarillento	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	1 mm
Lavamanos Baño de Mujeres	LBM1AA M1	Blanco	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Mucosa	4 mm
	LBM1AA M2	Blanco	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	1 mm
Sanitario Baño de Hombres Artes	SBHAr M1	Beige	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	6 mm
	SBHAr M2	Blanco-beige	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	2 mm
	SBHAr M3	Amarillo claro	Circular	Elevada	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	1 mm
Sanitario Baño de Hombres	SBH1DA M1	Naranja	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	1 mm
	SBH1DA M2	Beige	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	1 mm
	SBH1DA M3	Beige	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	1 mm
	SBH1DA M4	Beige	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	1 mm
Orinal Baño de Hombres Artes	OBHAr M1	Beige	Irregular	Elevada	Ondulado	Brillante	Transparente	Cremosa	15 mm
	OBHAr M2	Amarillo-naranja	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	1 mm
	OBHAr M3	Blanco	Fusiforme	Elevada	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	2 mm
	OBHAr M4	Amarillo-beige	Circular	Convexa	Entero	Cerosa	Opaca	Cremosa	3 mm
	OBHAr M5	Beige	Circular	Convexa	Ondulado	Brillante	Transparente	Cremosa	2 mm
Sanitario Baño de Mujeres Artes	SBMAr M1	Beige	Irregular	Convexa	Lobulado	Brillante	Transparente	Cremosa	2 mm
	SBMAr M2	Beige	Circular	Elevada	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	4 mm
	SBMAr M3	Beige	Circular	Elevada	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	2 mm
	SBMAr M4	Beige-blanco	Irregular	Elevada	Ondulado	Brillante	Transparente	Cremosa	8 mm
	SBMAr M5		Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	2 mm
Lavamanos Baño de Hombres	LBH1AA M1	Beige	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	< 1 mm
	LBH1AA M2	Naranja	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	< 1 mm
	LBH1AA M3	Beige	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Mucosa	< 1 mm
	LBH1AA M4	Amarillo muy claro	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	< 1 mm
Lavamanos Baños de	LBMAr M1	Blanco	Circular	Elevada	Entero	Cerosa	Opaca	Mucosa	10 mm

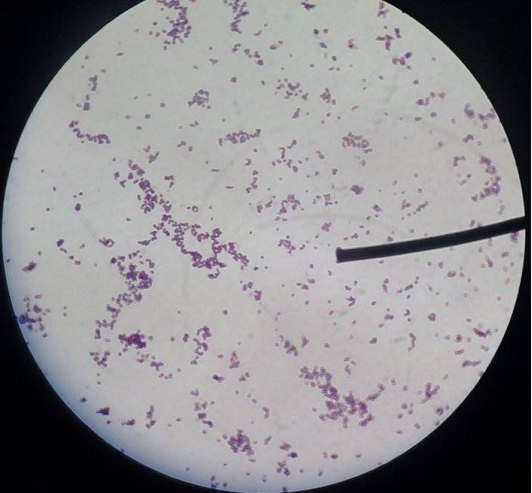
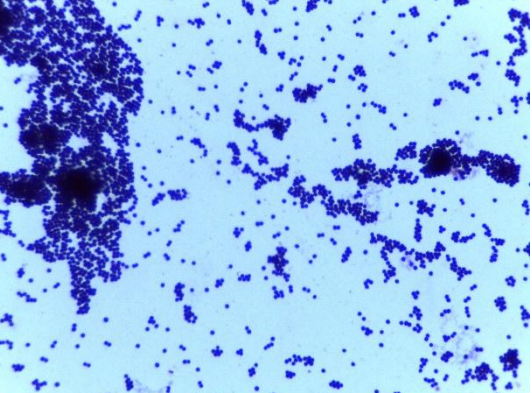
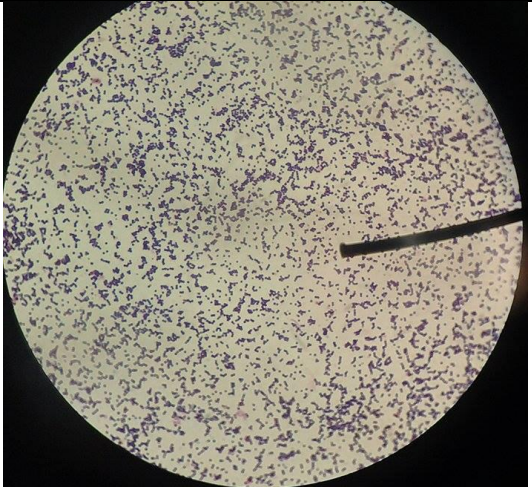
Mujeres Artes	LBMAr M2	Blanco-amarillento	Circular	Elevada	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	2 mm
	LBMAr M3	Amarilla	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Mucosa	3 mm
	LBMAr M4	Blanco-amarillento	Circular	Elevada	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	13 mm
Sanitario Baño de Hombres	SBH1AA M1	Beige	Irregular	Elevada	Ondulado	Cerosa	Opaca	Cremosa	9 mm
	SBH1AA M2	Naranja claro	Circular	Elevada	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	1 mm
	SBH1AA M3	Naranja rojizo	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	1,5 mm
	SBH1AA M4	Blanco	Circular	Convexa	Entero	Cerosa	Opaca	Cremosa	< 1 mm
	SBH1AA M5	Blanco	Puntiforme	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	< 1 mm
	SBH1AA M6	Rojizo	Circular	Plana	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	3 mm
Mesa de la Cafetería	MeCaf4 M1	Beige	Irregular	Convexa	Lobulado	Cerosa	Opaca	Cremosa	20 mm
	MeCaf4 M2	Beige	Irregular	Convexa	Ondulado	Brillante	Transparente	Cremosa	45 mm
	MeCaf4 M3	Beige	Circular	Elevada	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	1 mm
	MeCaf4 M4	Beige	Circular	Elevada	Ondulado	Brillante	Transparente	Cremosa	3 mm
	MeCaf4 M5	Amarillo	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	1 mm
	MeCaf4 M6	Beige	Irregular	Umbonada	Ondulado	Cerosa	Opaca	Cremosa	19 mm
	MeCaf4 M7	Amarillo claro	Circular	Elevada	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	5 mm
	MeCaf4 M8	Beige	Circular	Elevada	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	4 mm
	MeCaf4 M9	Beige	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Transparente	Cremosa	2 mm

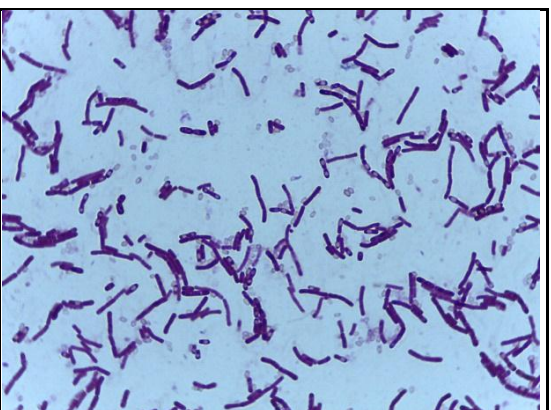
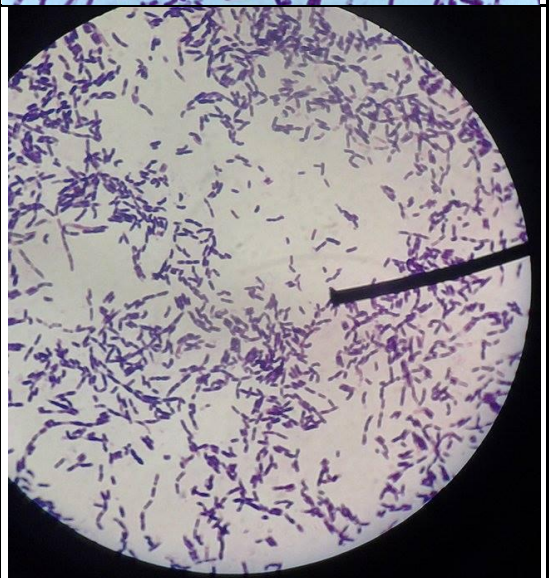
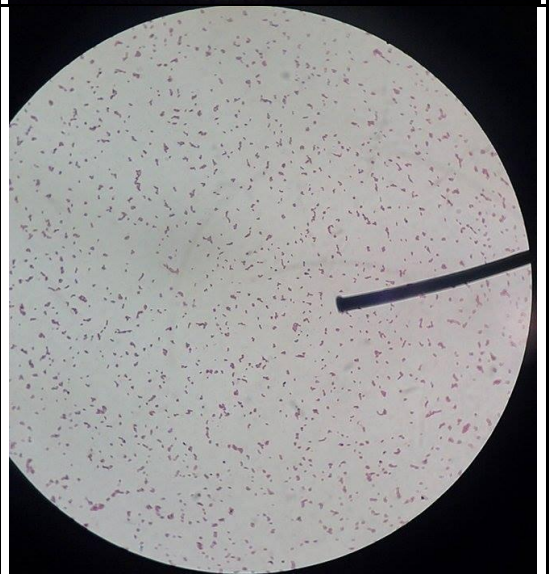
Tabla 9. Descripción macroscópica de colonias segundo muestreo.

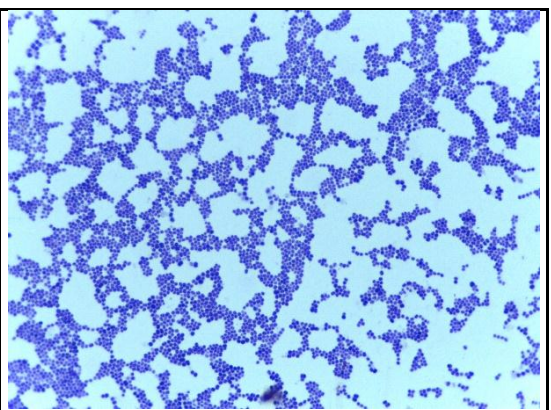
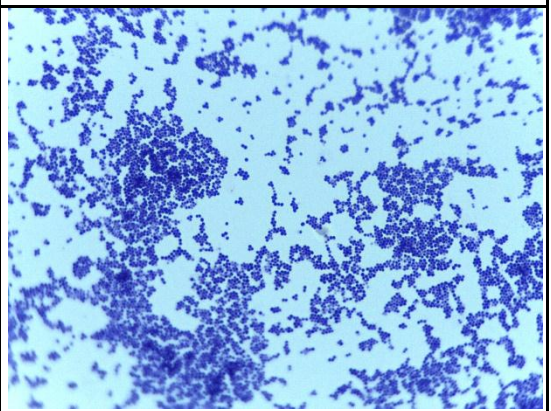
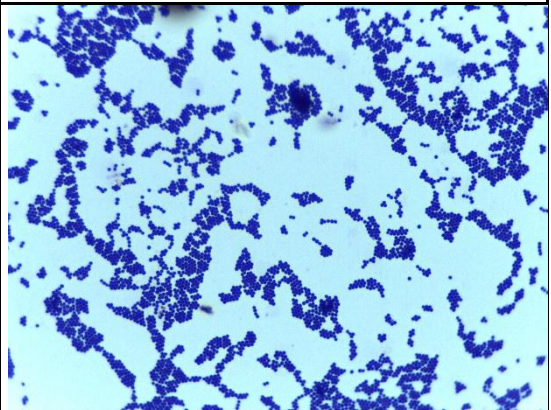
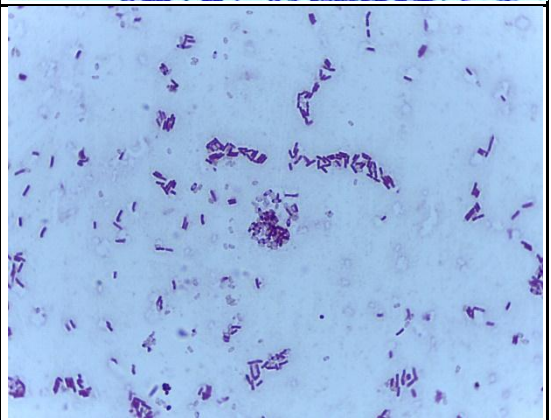
Descripción de la morfología celular

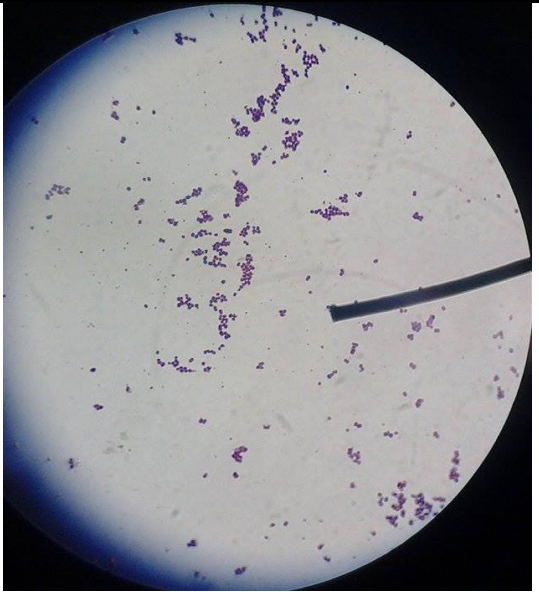
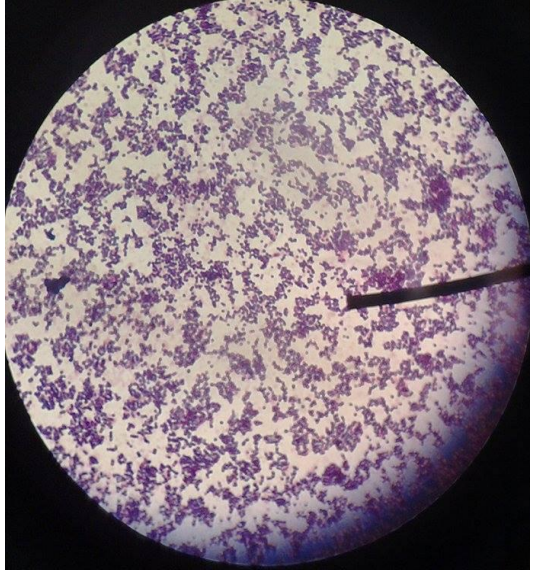
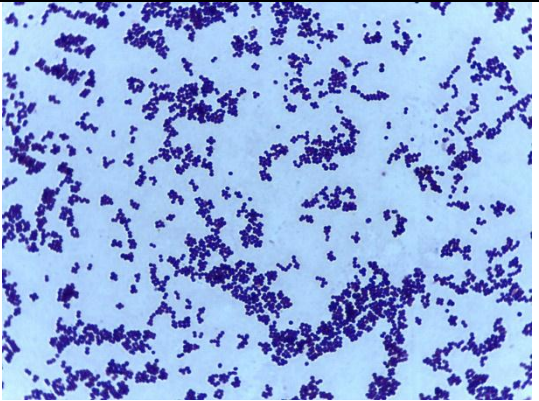
A continuación se detalla la descripción de la morfología celular mediante la observación microscópica de cada uno de los morfotipos aislados, teniendo en cuenta aspectos como el color de las bacterias después de la tinción, la forma de las bacterias y su agrupación. Estas descripciones se realizaron observando los frotis, previamente teñidos con la coloración de Gram, con objetivo de 100x. Se adjuntan las imágenes de cada una de las observaciones.

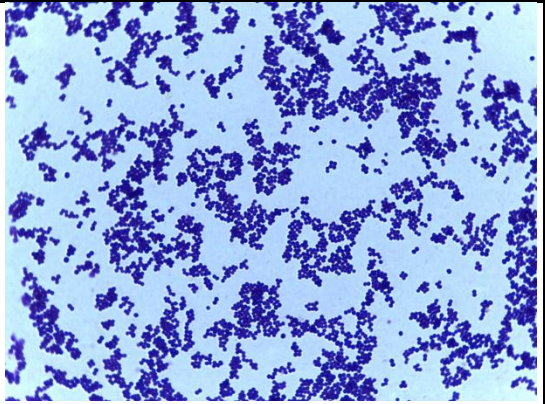
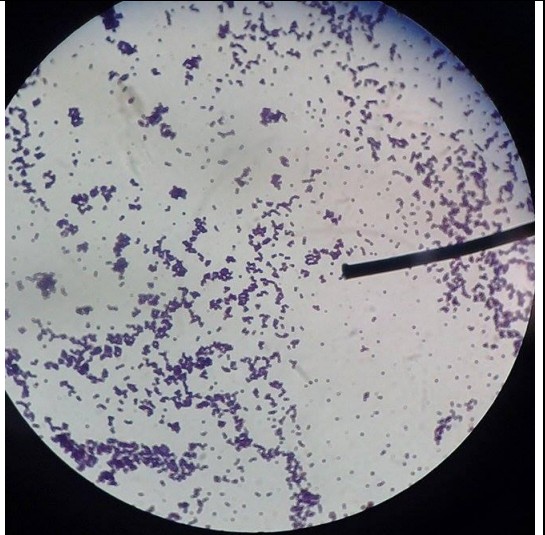
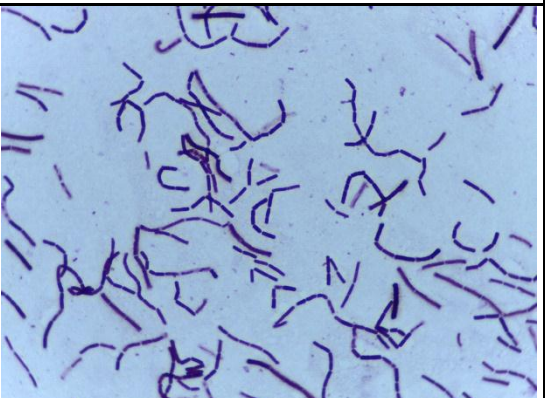
Primer muestreo:


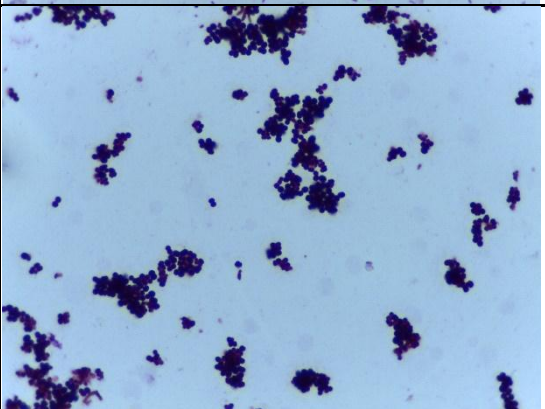
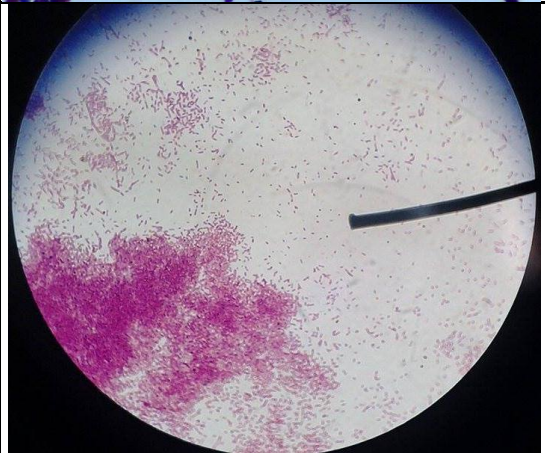
Sitio de muestreo	Código	Descripción	Micrografía
Sanitario Baño de Mujeres	2SBMAA M13	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
	SBM2AA M6	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
	2SBMAA M10	Cocos Gram positivos en racimos (estafilococos)	

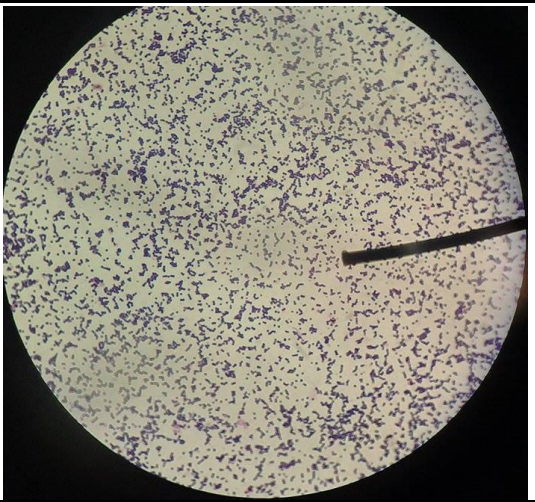
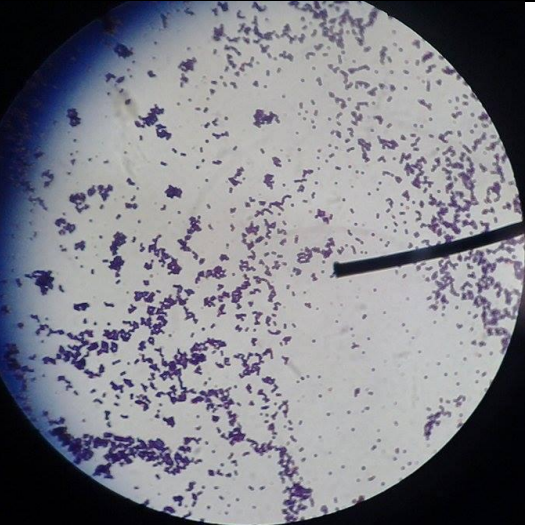
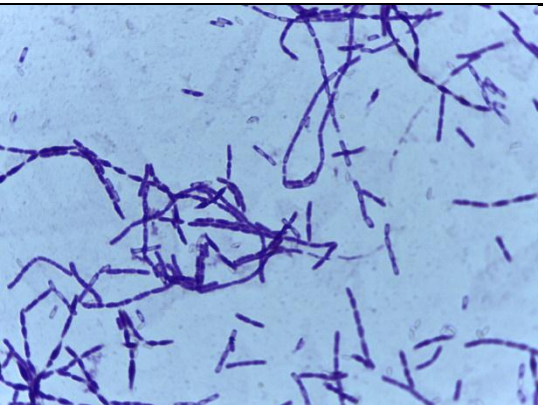
	2SBMAA M11	Bacilos Gram positivos en cadena (Streptobacilos)	
	SBM2AA M1	Bacilos Gram positivos no esporulados en cadena (Streptobacilos)	
	SBM2AA M2	Bacilos Gram positivos muy pequeños, la mayoría en parejas (Diplobacilos)	

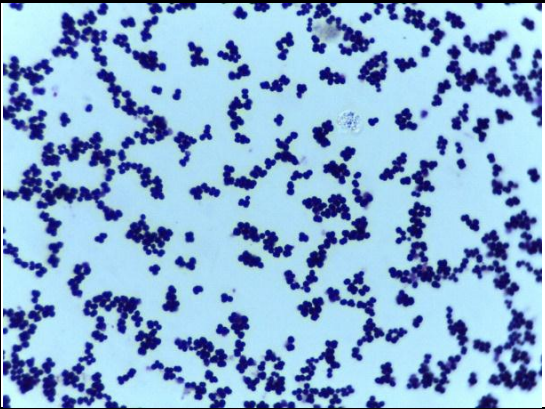
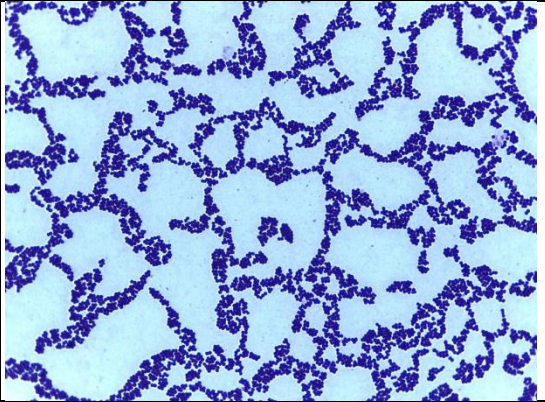

	2SBMAA M9	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
	SBM2AA M5	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
	SBM2AA M7	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
	2SBMAA M12	Diplobacilos Gram positivos con espora en el centro	

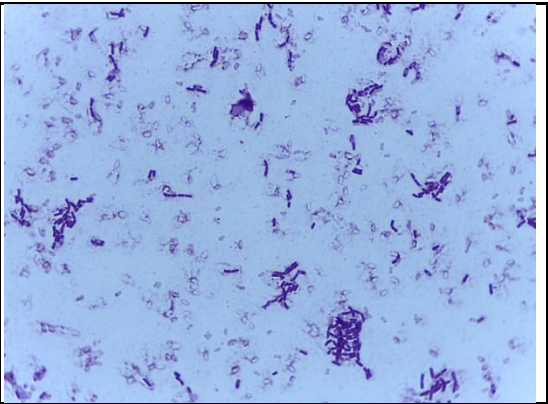
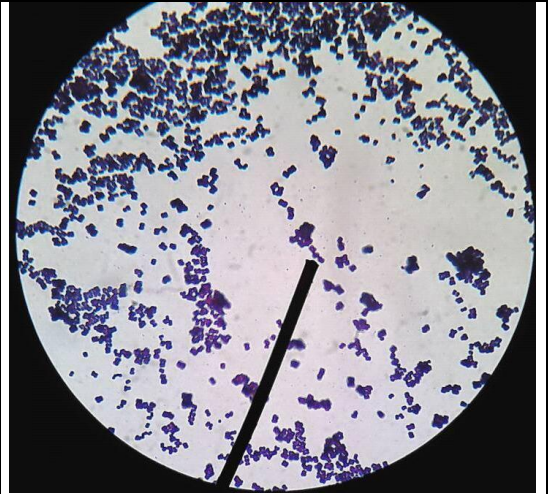
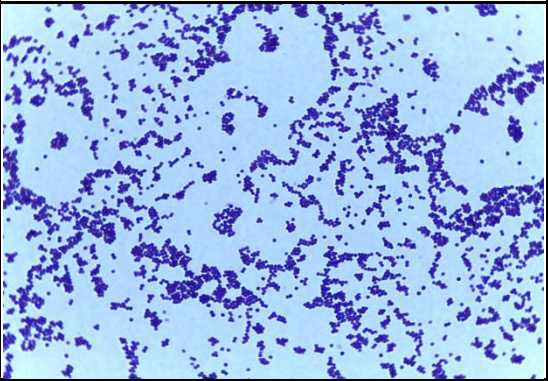
	2SBMAA M14	Cocos Gram positivos en racimos (estafilococos)	
	SB2M2AA M1	Cocos Gram positivos en racimos (estafilococos)	
Orinal Baño de Hombres	OBH2 M1	Cocos Gram positivos en racimos (estafilococos)	

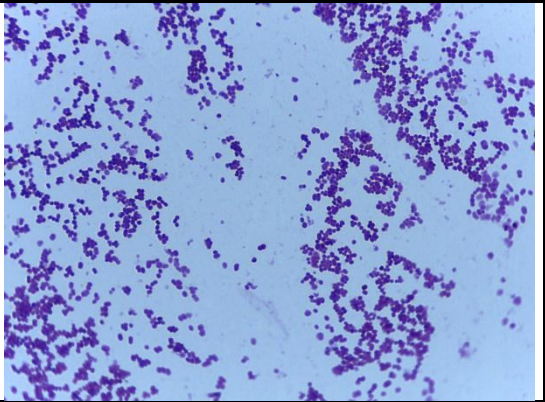
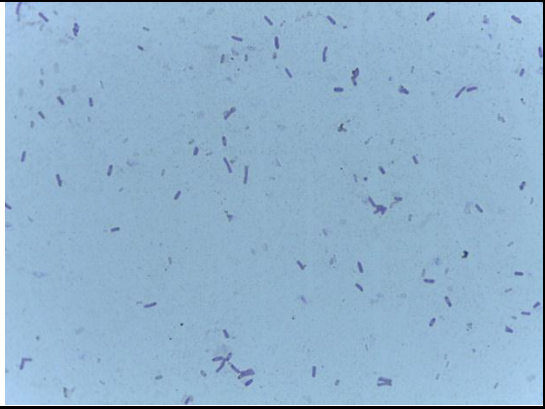
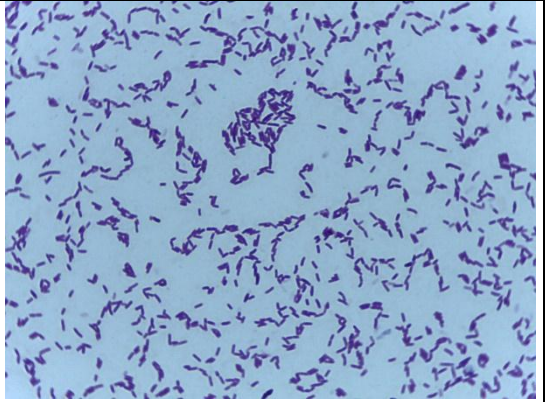
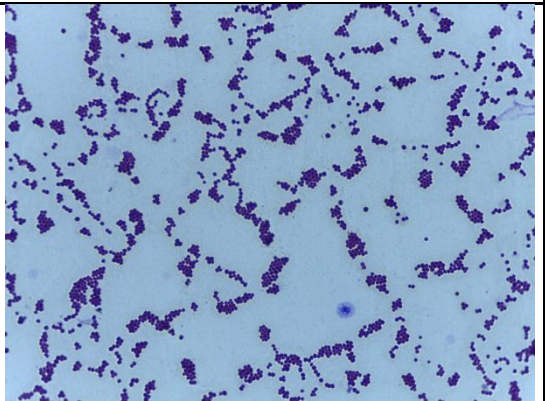
	OBH2 M2	Cocos Gram positivos en racimos (estafilococos)	
	OBH2 M3	Cocos Gram positivos en racimos (estafilococos)	
Lavamanos Baño de Mujeres	2LMDA M1	Bacilos Gram positivos no esporulados en cadenas y de forma regular	

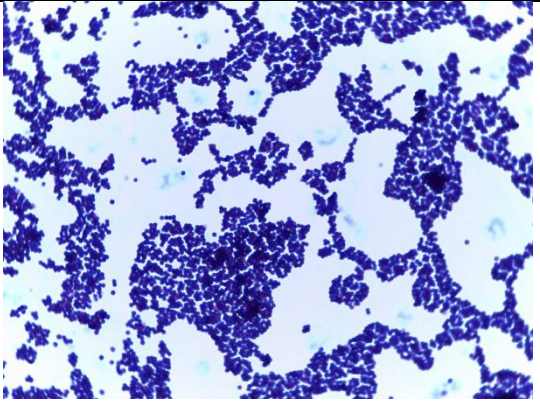
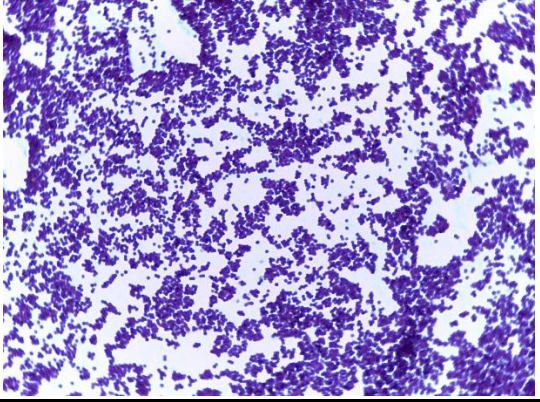
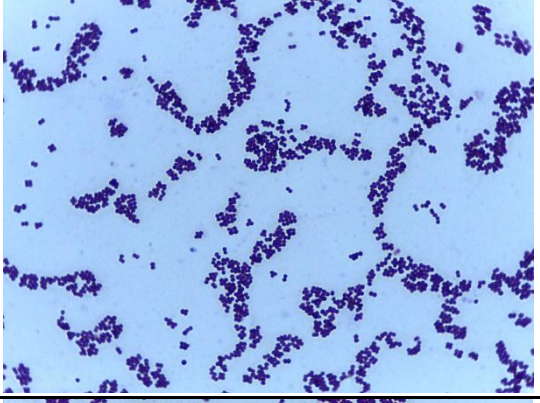
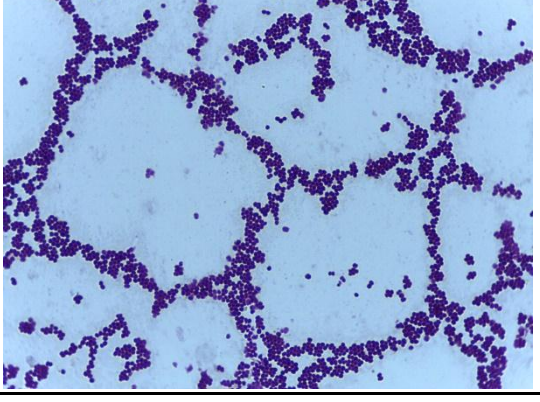
	2LMDA M2	Bacilos Gram positivos muy cortos no esporulados, la mayoría en empalizada	
	2LMDA M3	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
Sanitario Baño de Mujeres	2SMDA M3	Bacilos Gram positivos en cadenas	

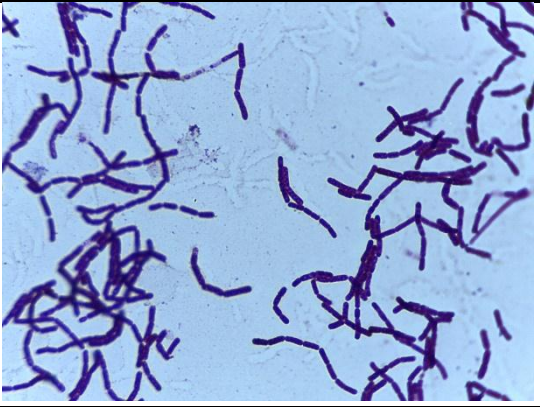
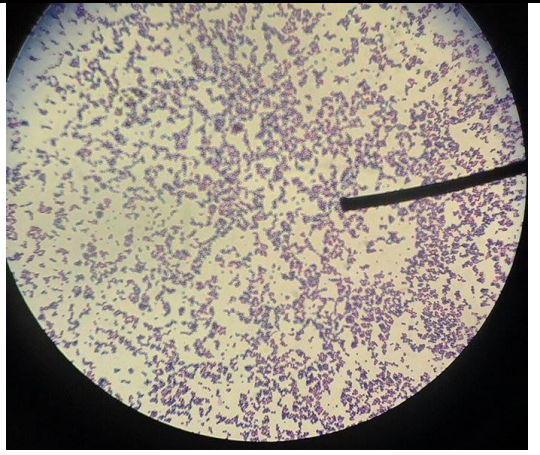

	2SMDA M5	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
	2SMDA M1	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
Lavamanos Baño de Hombres	2LBHDA M1	Bacilos Gram positivos esporulados en cadena	

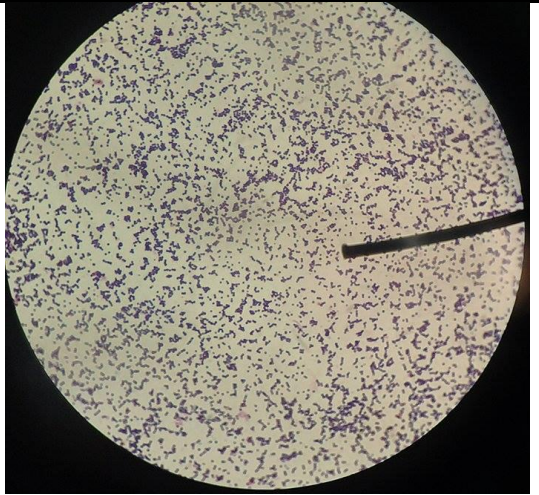
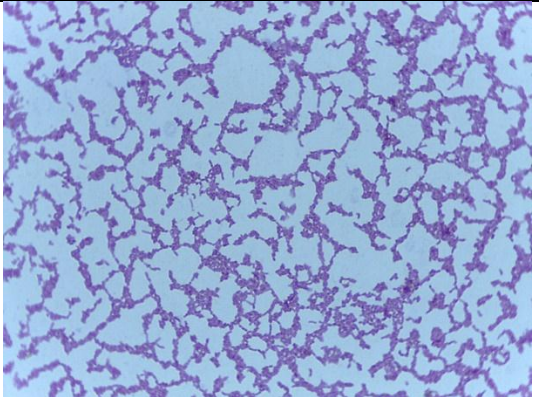

	2LBHDA M2	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
	Mcaf1 M3	Cocos Gram positivos en racimos (estafilococos)	
Mesa de la Cafetería	Mcaf1 M6	Cocos Gram positivos en racimos (estafilococos)	

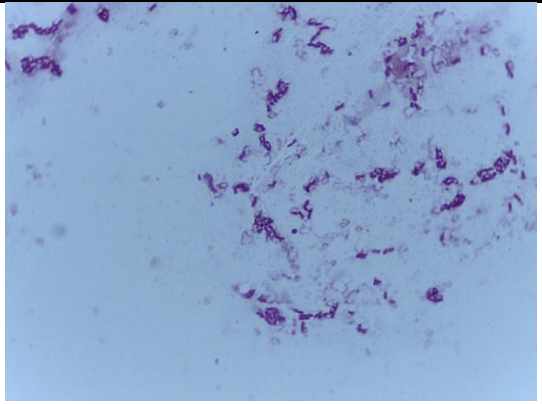
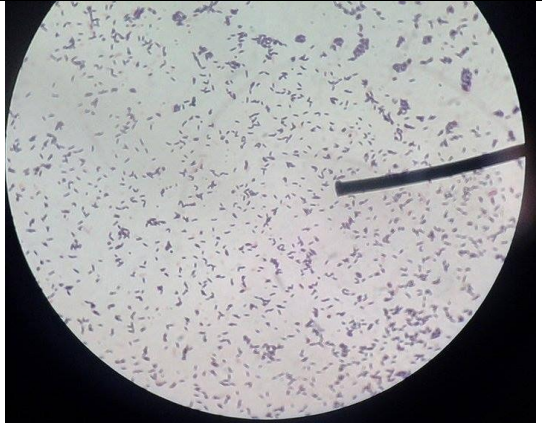
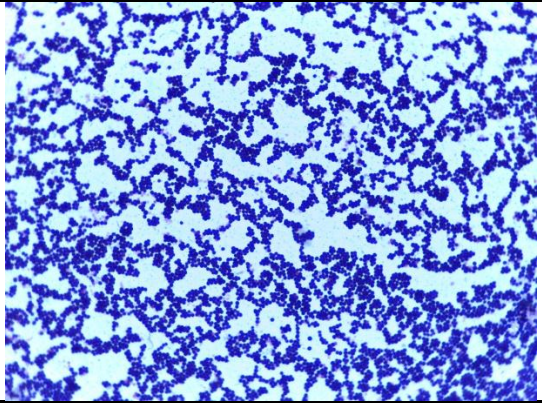
	Mcaf1 M5	Bacilos Gram positivos	
	Mcaf1 M2	Cocos Gram positivos en racimos (estafilococos)	
	Mcaf1 M7	Cocos Gram positivos en racimos (estafilococos)	

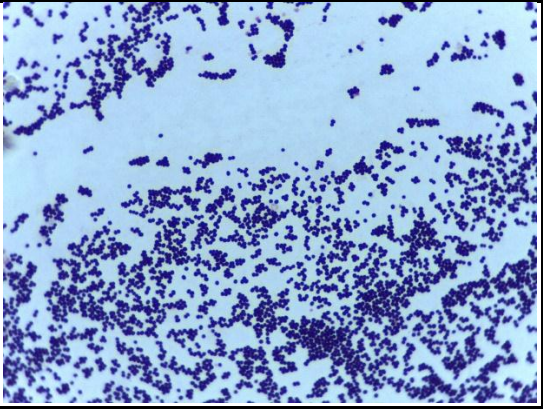
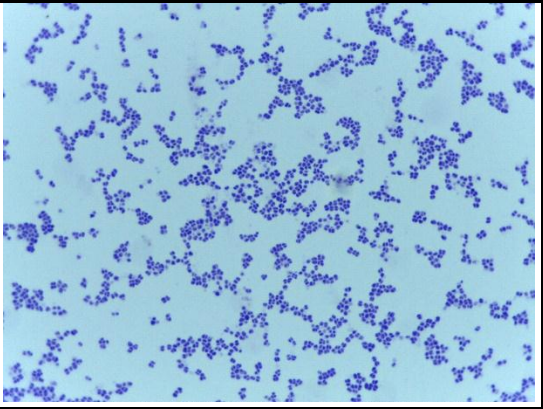
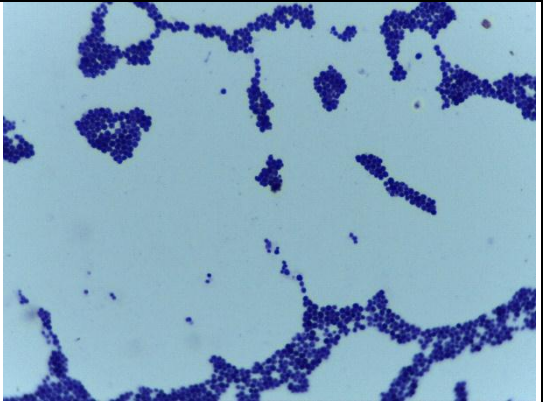
	Mcaf1 M4	Cocos Gram positivos en racimos (estafilococos)	
Mesón de la Cafetería	Mecaf2 M9	Bacilos Gram positivos en parejas y cadena	
	Mecaf M4	Bacilos Gram positivos (diplobacilos)	
	Mecaf2 M10	Cocos Gram positivos en racimos (estafilococos)	

	Mecaf2 M12	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
	Mecaf M2	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
	Mecaf2 M6	Cocos Gram positivos en racimos (estafilococos)	
	Mecaf2 M8	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	

	Mecaf M1	Bacilos Gram positivos en cadena (estreptobacilos)	
	Mecaf2 M13	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
Lavamanos Baño de Mujeres	2LBMAA M2	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	

Sanitario Baño de Hombres	2SBHDA M4	Cocos Gram positivos en racimos (estafilococos)	
	2SBHDA M1	Bacilos Gram positivos	
	2SBHDA M3	Bacilos Gram positivos esporulados muy cortos	

Sanitario Baño de Hombres	SB2HAA (1) M8	Bacilos Gram positivos con esporas	
	SB2HAA M2	Bacilos Gram positivos	
	SB2HAA(2) M8	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
	SB2HAA(3) M5	Cocos Gram positivos en racimos (estafilococos)	
	SB2HAA M4	Cocos Gram positivos en racimos (estafilococos)	

	SB2HAA (3) M7	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
	SB2HAA M3	Cocos Gram positivos en racimos (estafilococos)	
	SB2HAA(3) M6	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
	SB2HAA(1) M9	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	

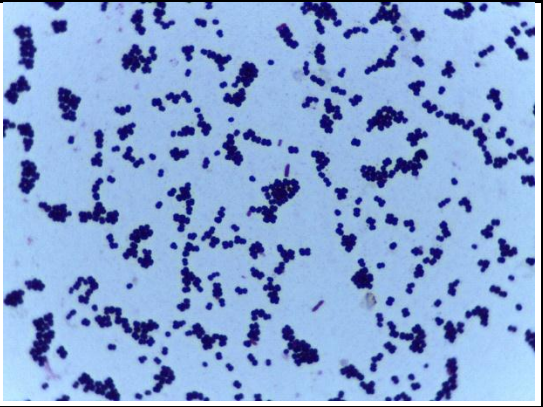
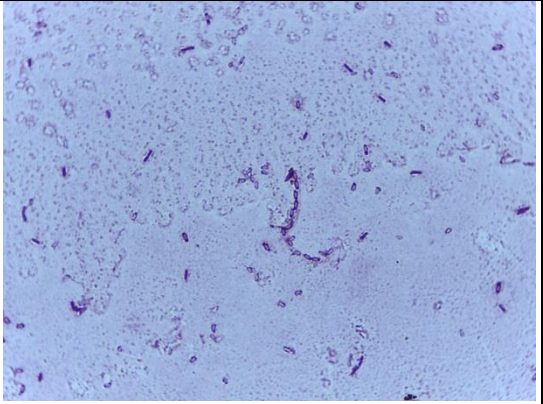
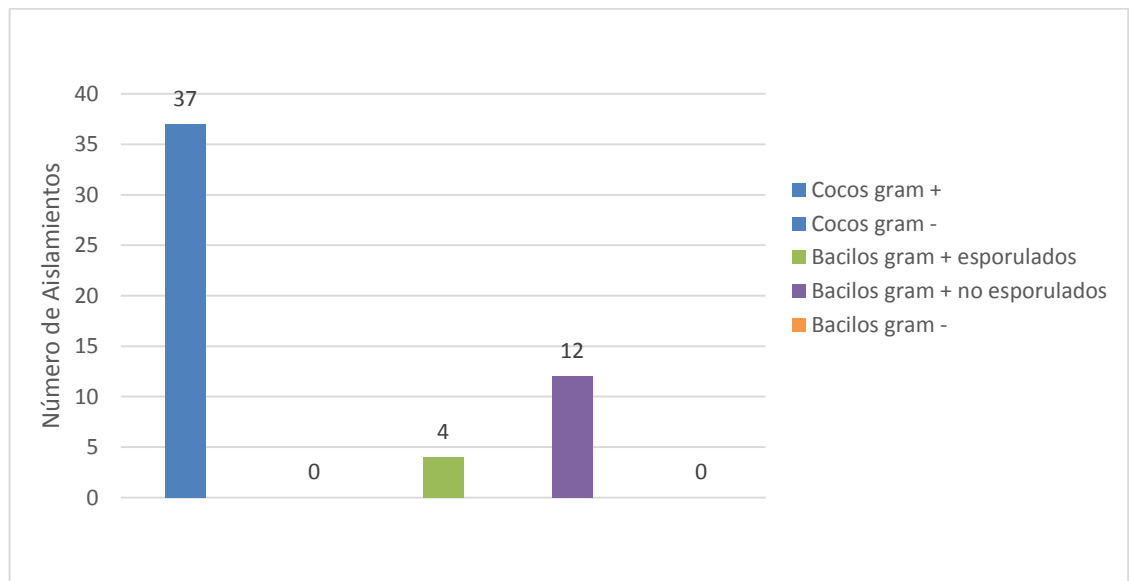
	SB2HAA (2) M10	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
	SB2HAA M1	Cocos Gram positivos en racimos (estafilococos)	

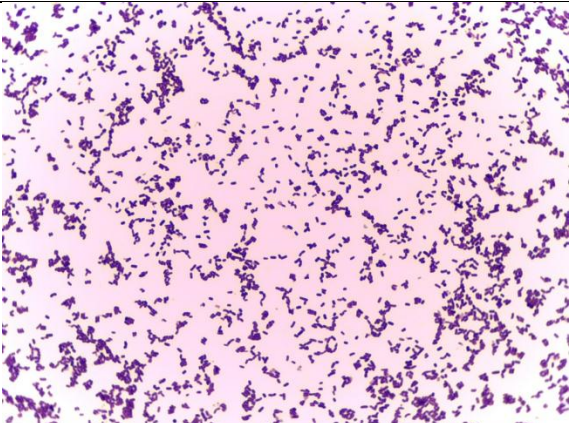
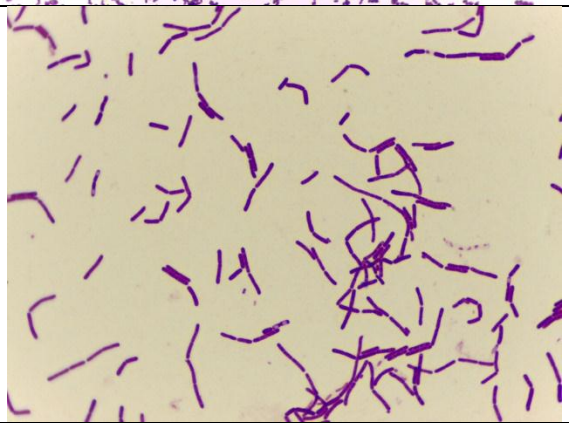
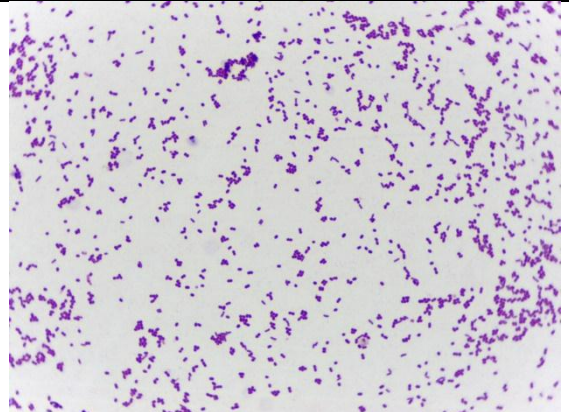
Tabla 10. Descripción de la morfología celular durante el primer muestreo

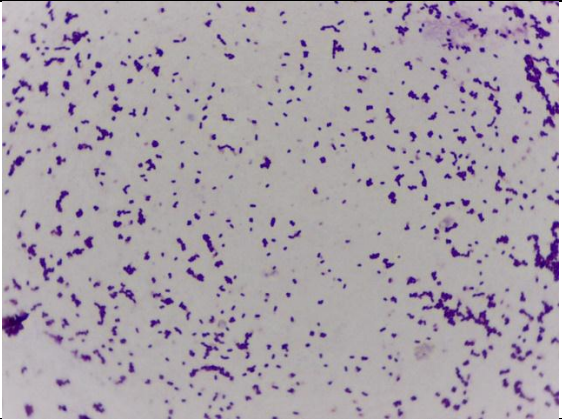
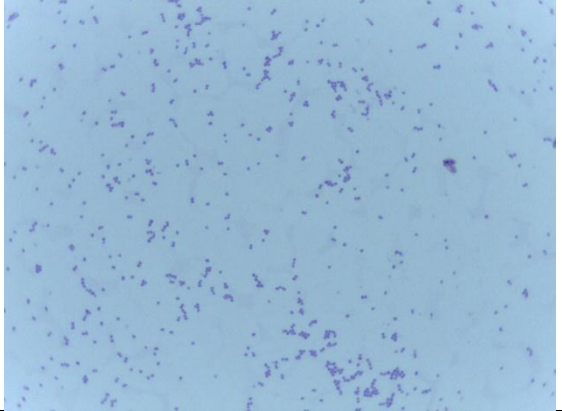
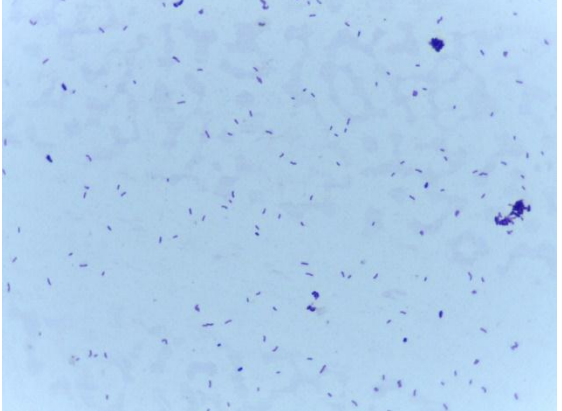


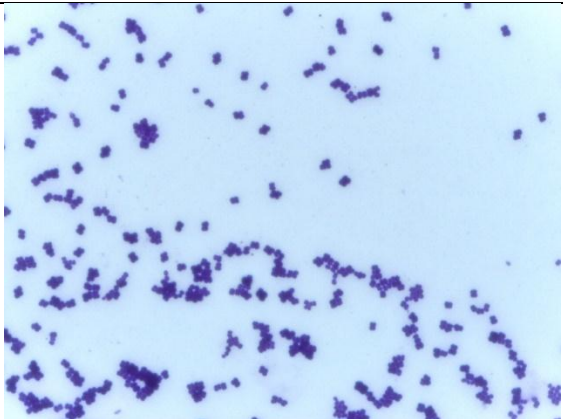
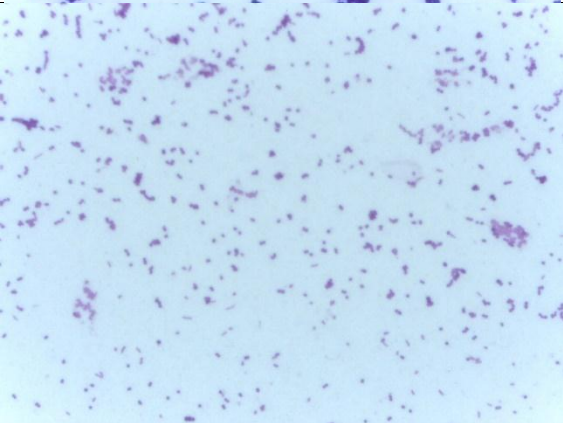
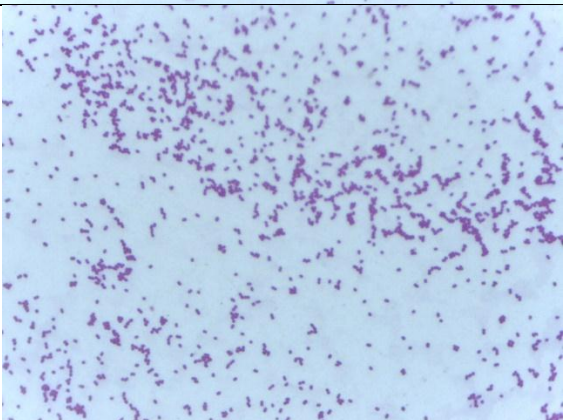
Gráfica 11. Morfotipos primer muestreo.

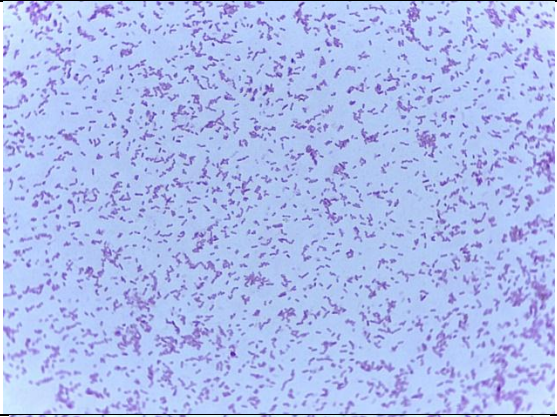
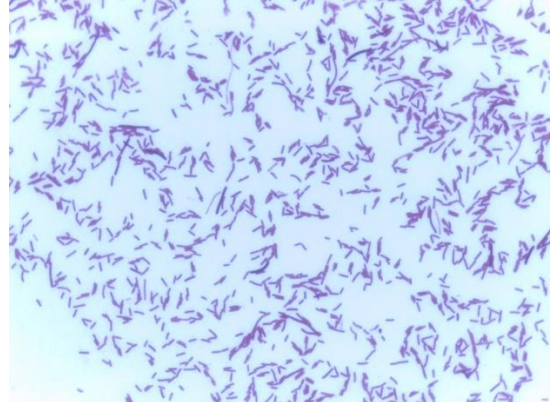
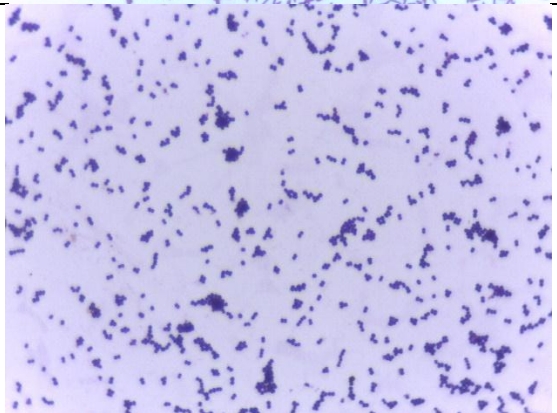
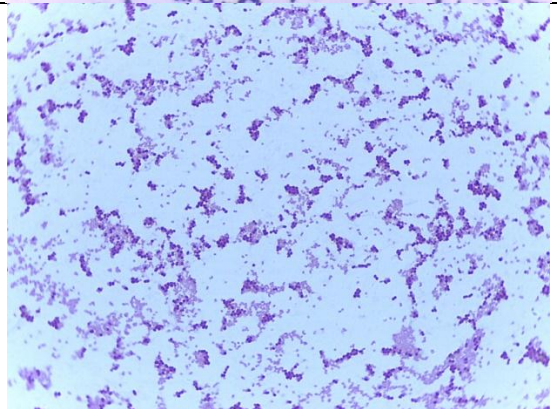
Segundo muestreo

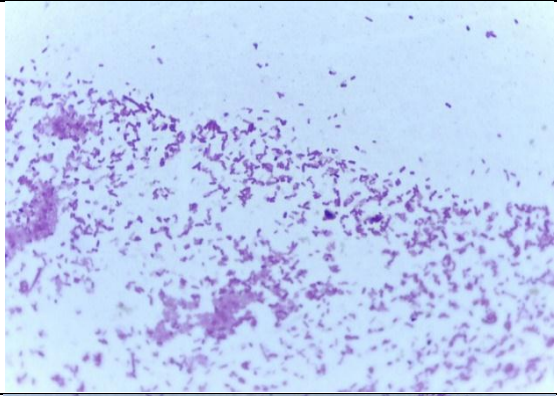
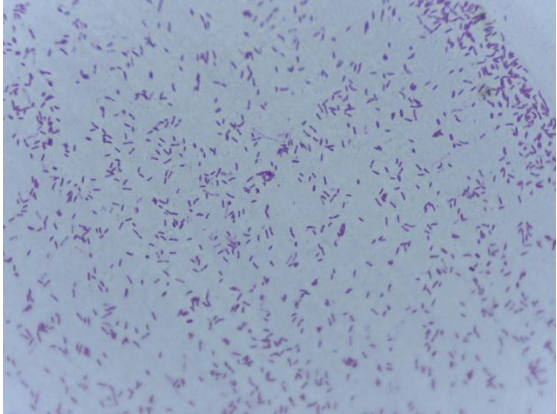
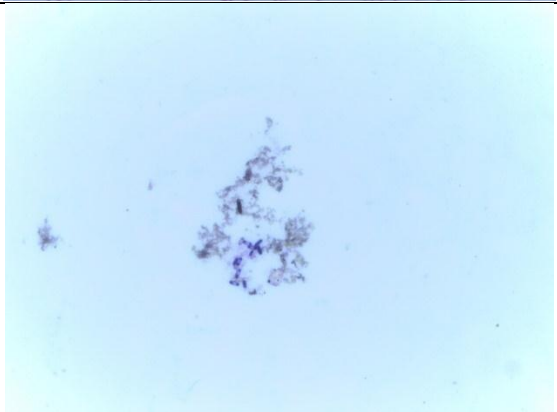
Sitio de	Código	Descripción	Micrografía
----------	--------	-------------	-------------

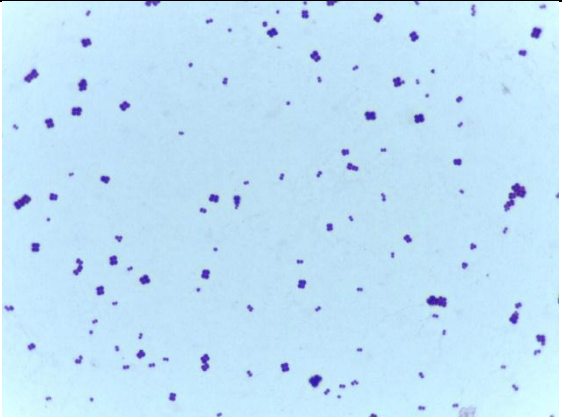
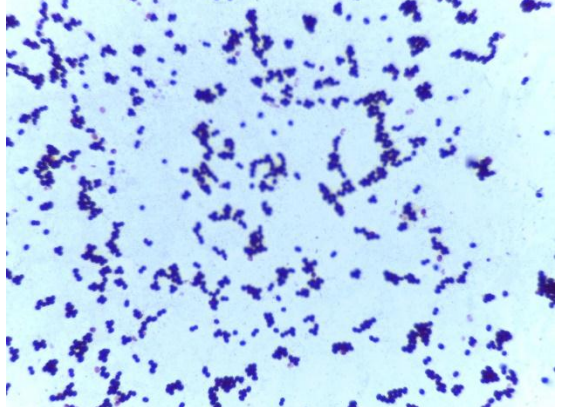
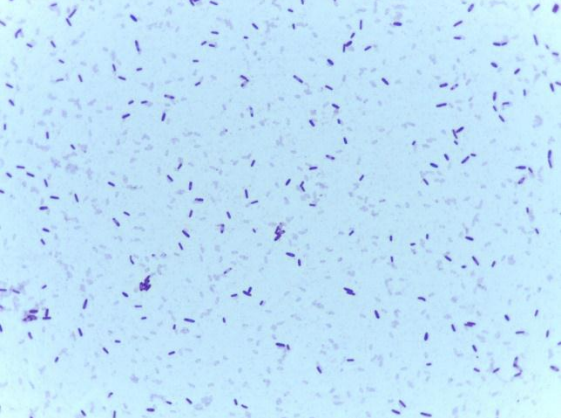
muestreo			
Lavamanos Baño de Hombres Artes	LBHAr M1	Bacilos o cocobacilos Gram positivos	
	LBHAr M2	Bacilos Gram negativos en cadena (Streptobacilos)	
	LBHAr M3	Cocos Gram negativos en parejas (diplococos)	

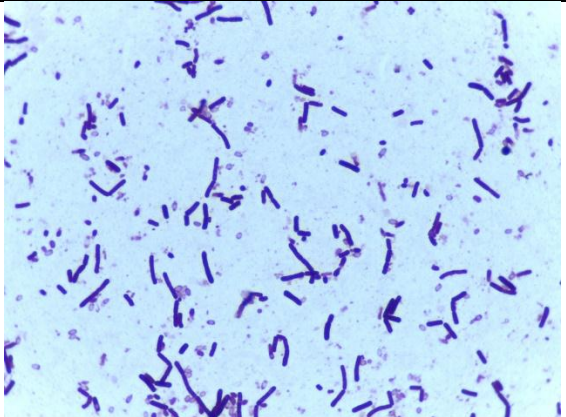
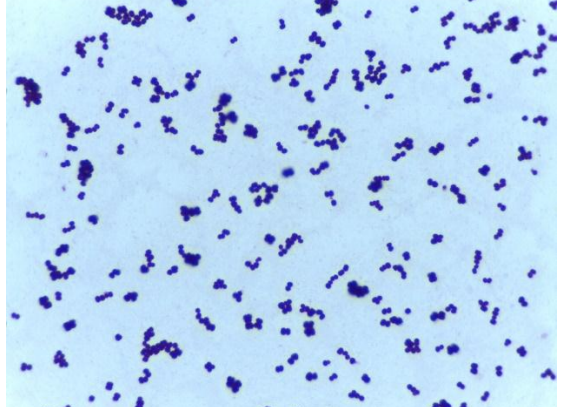
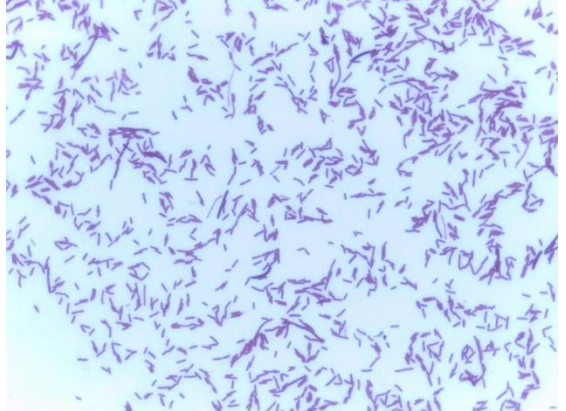
	LBHAr M4	Cocos Gram positivos en parejas y en racimos (diplococos o estafilococos)	
Sanitario Baño de Mujeres	SBM1AA M3	Cocos Gram positivos en racimos, algunos en cadena	
	SBM1AA M4	Bacilos Gram positivos en parejas (Diplobacilos), algunos solos	

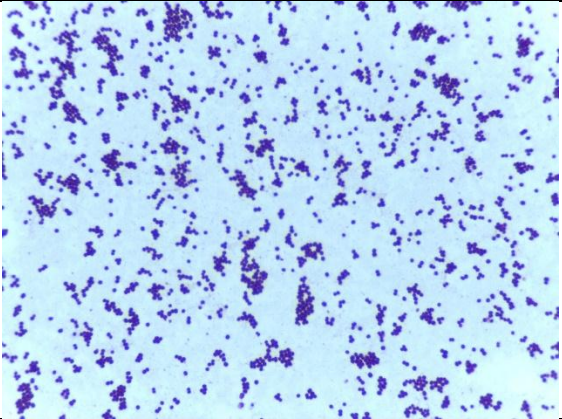
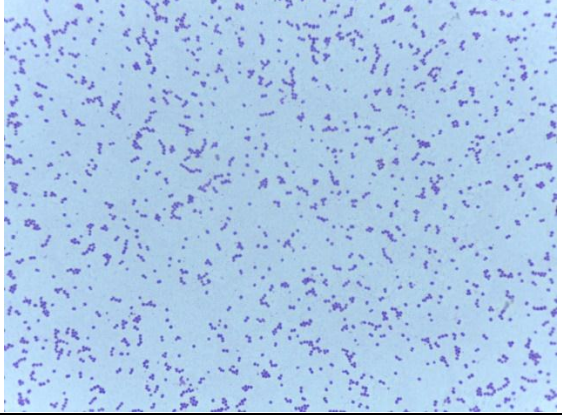

Orinal Baño de Hombres	OBH1 M2	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos) con un punto negro en el centro	
Lavamanos Baño de Mujeres	LBM1DA M1	Cocos Gram negativos en parejas	
	LBM1DA M2	Cocos Gram positivos en racimos	

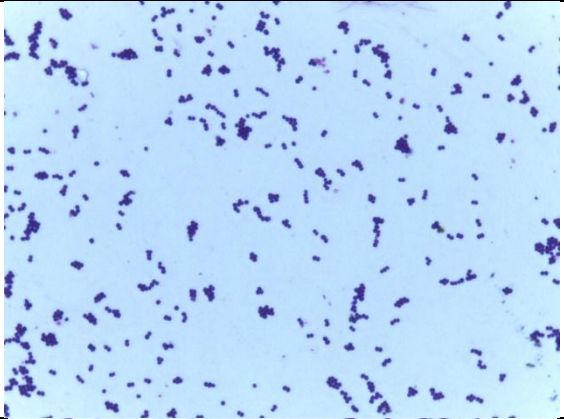

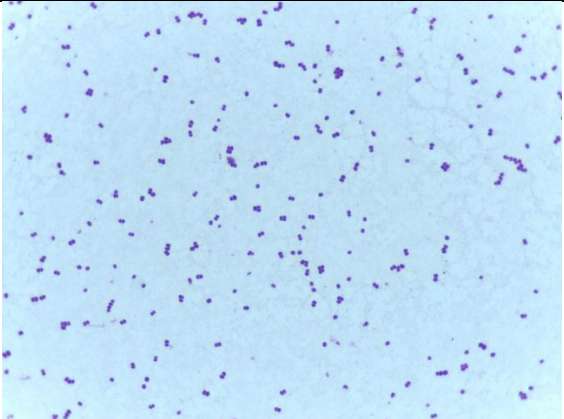
	LBM1DA M3	Bacilos Gram positivos esporulados, la mayoría en cadena (Streptobacilos)	
	LBM1DA M4	Bacilos Gram positivos solos	
	LBM1DA M5	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
Lavamanos Baño de Hombres	LBH1DA M1	Cocos Gram positivos en racimos (estafilococos)	

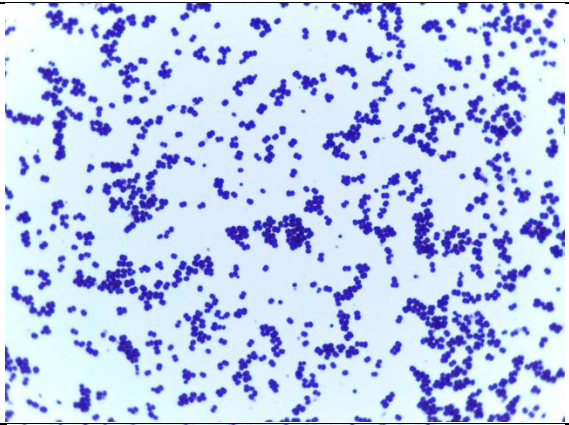
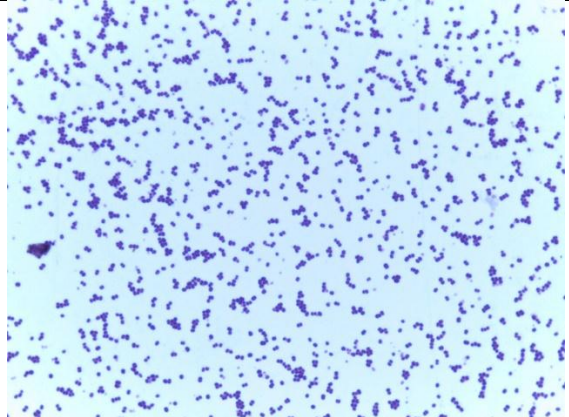

	LBH1DA M2	Bacilos muy pequeños, Gram negativos y en parejas	
	LBH1DA M3	Bacilos muy cortos Gram negativos	
Mesa de la Cafetería	MeCaf3 M1	Bacilos Gram positivos esporulados, solos	
	MeCaf3 M2	Bacilos Gram positivos solos, algunos esporulados	

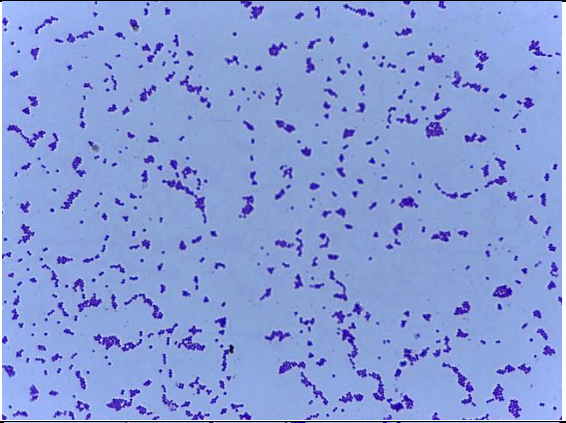
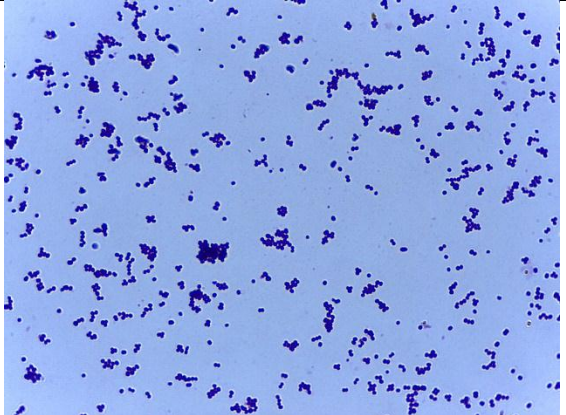
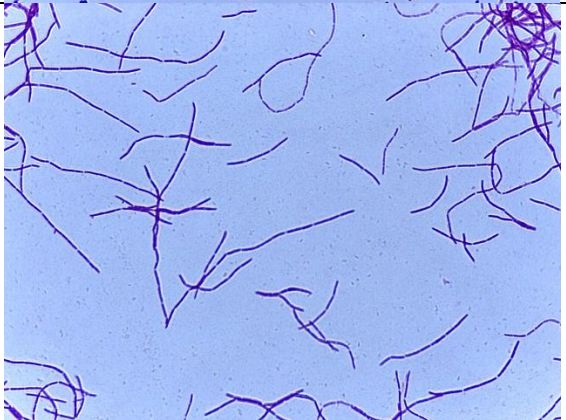
	MeCaf3 M3	Cocos Gram positivos en t�trada, algunos diplococos	
	MeCaf3 M4	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
	MeCaf3 M5	Bacilos Gram positivos esporulados, solos	

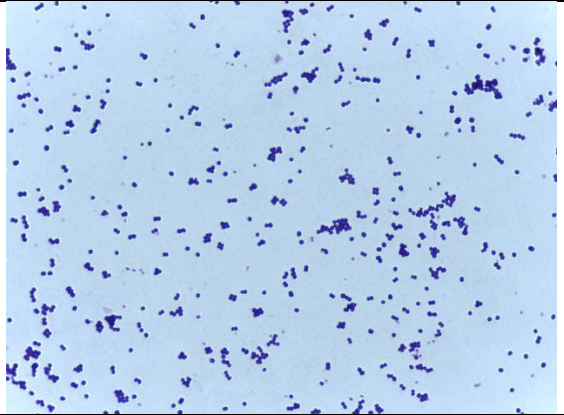
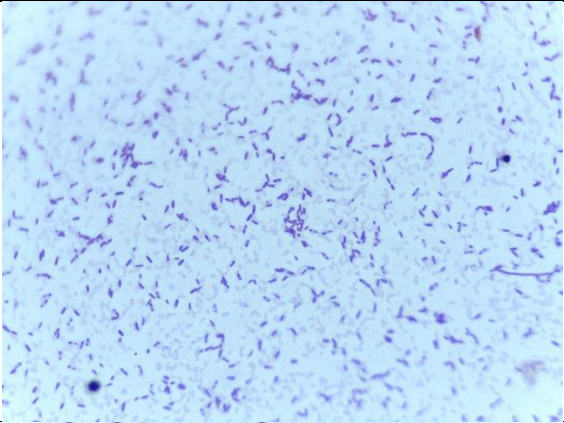

	MeCaf3 M6	Bacilos Gram positivos en cadenas	
	MeCaf3 M7	Cocos Gram positivos en racimos, algunos en cadena	
	MeCaf3 M8	Bacilos Gram positivos en empalizada	


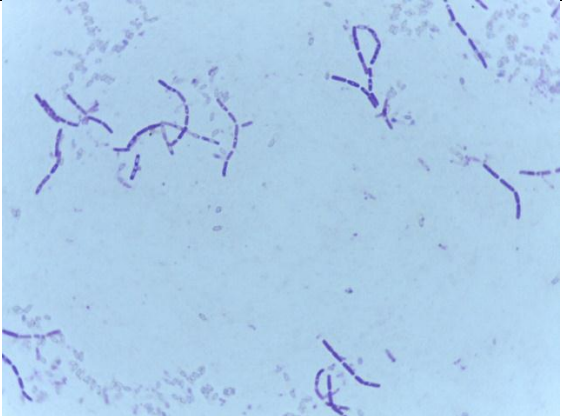
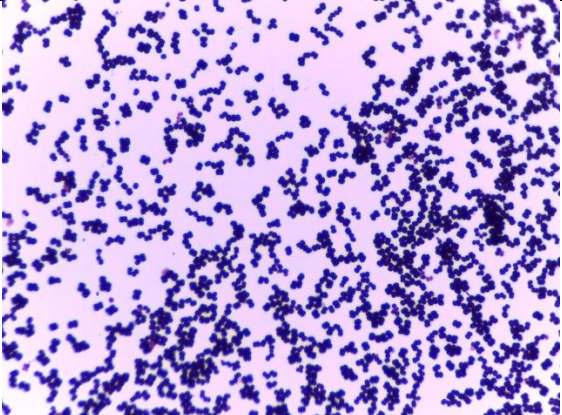
Lavamanos Baño de Mujeres	LBM1AA M1	Cocos Gram positivos en racimo (Estafilococos), algunos en parejas	
	LBM1AA M2	Cocos Gram positivos, la mayoría en cadena	
Sanitario Baño de Hombres Artes	SBHAr M1	Bacilos Gram positivos solos, algunos esporulados	


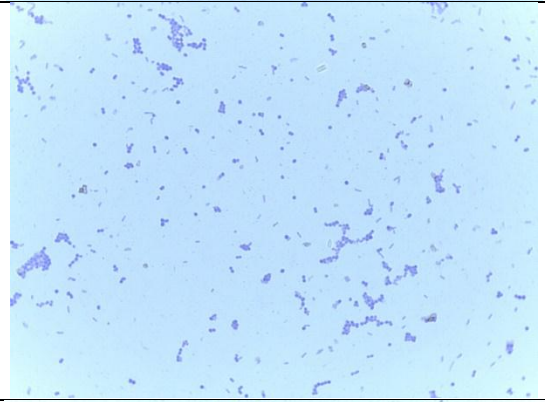

	SBHAr M2	Cocos Gram positivos, la mayoría en cadena	
	SBHAr M3	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
Sanitario Baño de Hombres	SBH1DA M1	Cocos Gram positivos en parejas (diplococos)	

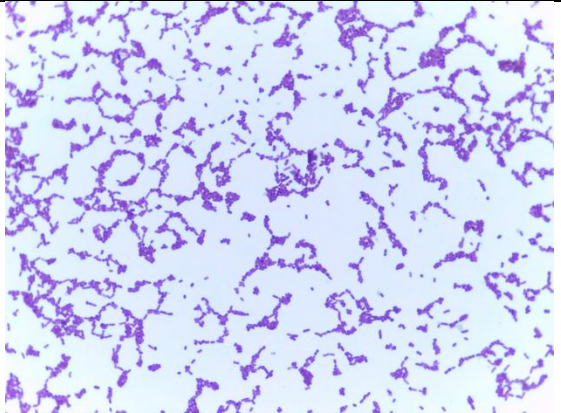
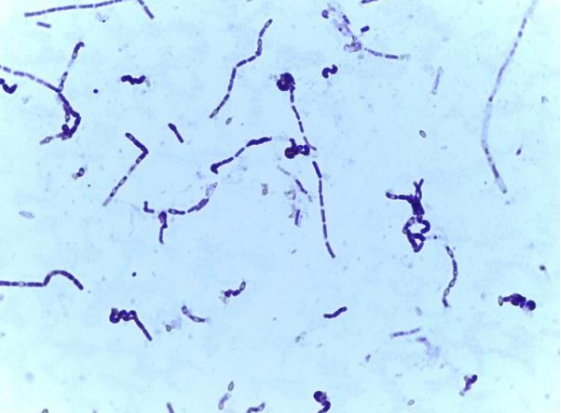
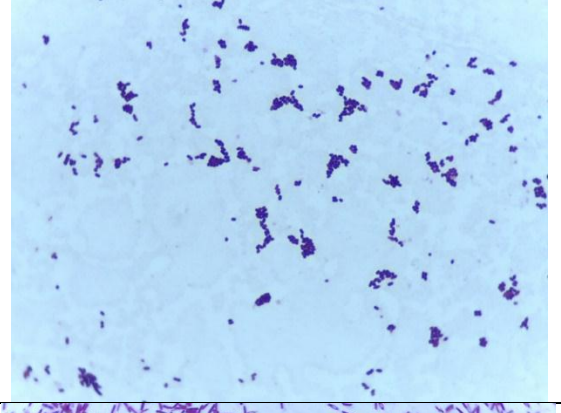
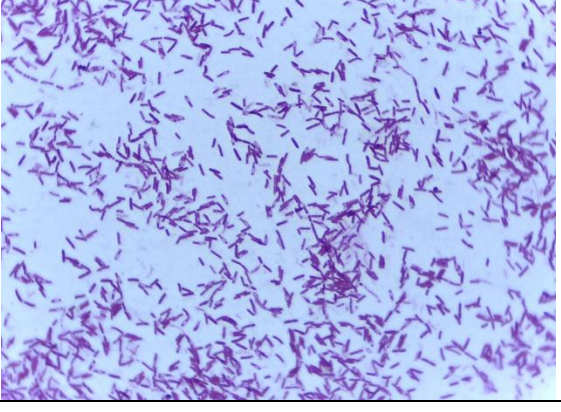
	SBH1DA M2	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos), algunos en tétradas	
	SBH1DA M3	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos), algunos en parejas	
Orinal Baño de Hombres Artes	OBHAr M1	Bacilos Gram positivos, algunos esporulados (Diplobacilos)	

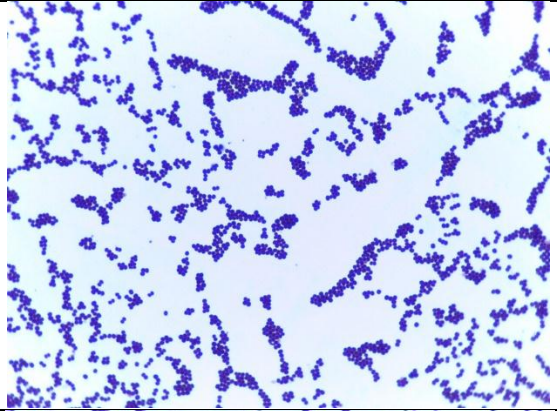
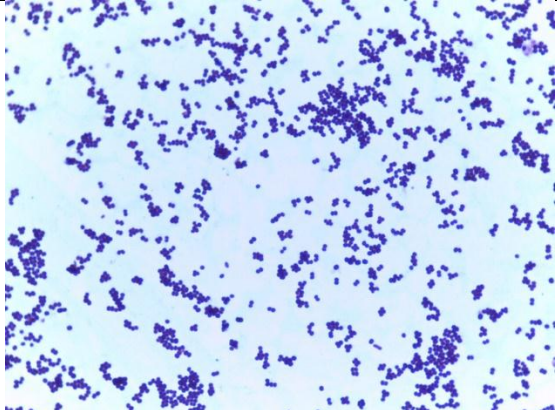
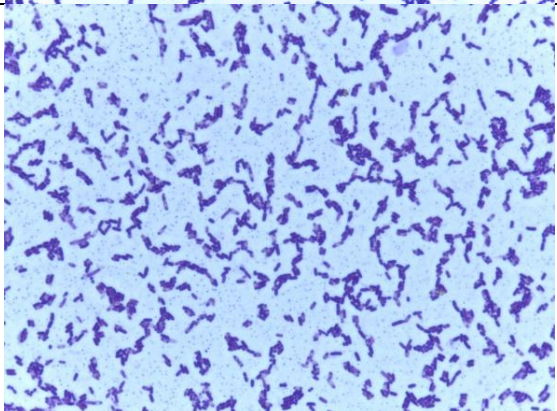
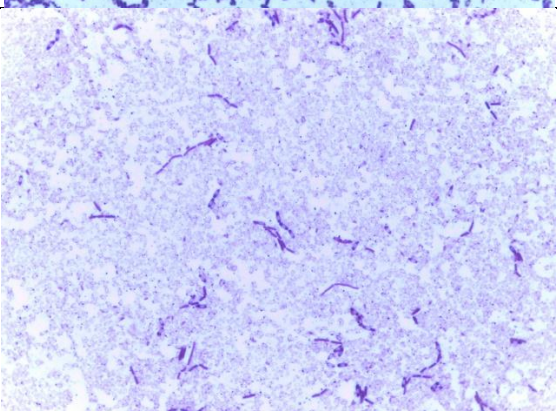
	OBHAr M2	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
	OBHAr M3	Cocos Gram positivos la mayoría en racimos (Estafilococos)	
	OBHAr M4	Bacilos Gram positivos en cadena	


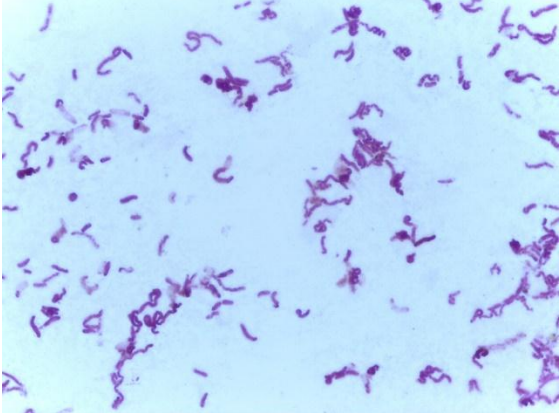
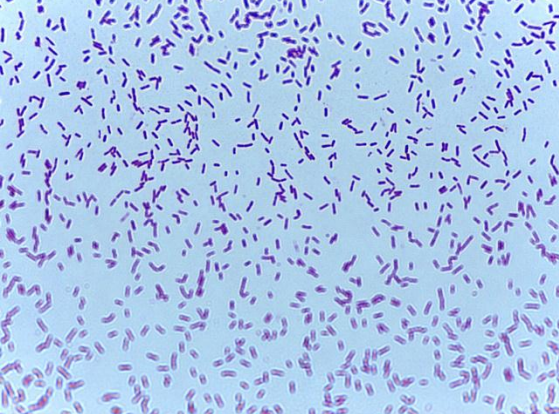

	OBHAr M5	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
Sanitario Baño de Mujeres Artes	SBMAr M1	Bacilos Gram positivos solos, esporulados	
	SBMAr M2	Bacilos Gram positivos en cadena	

	SBMAr M3	Cocos Gram positivos en tétrada	
	SBMAr M4	Bacilos Gram positivos en cadena, esporulados	
	SBMAr M5	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
Lavamanos Baño de Hombres	LBH1AA M1	Bacilos Gram positivos solos y otros en parejas	
	LBH1AA M2	Bacilos Gram positivos en cadena	

	LBH1AA M3	Bacilos Gram positivos, la mayoría solos y algunos en cadena	
Lavamanos Baños de Mujeres Artes	LBMAr M1	Bacilos Gram positivos en parejas (Diplobacilos)	
	LBMAr M2	Cocos Gram positivos en racimo (Estafilococos)	
	LBMAr M3	Bacilos Gram positivos en parejas (Diplobacilos)	

	LBMAr M4	Bacilos Gram negativos	
Sanitario Baño de Hombres	SBH1AA M1	Bacilos Gram positivos esporulados, en cadena (Streptobacilos)	
	SBH1AA M2	Bacilos cortos Gram positivos en cadena	
	SBH1AA M3	Bacilos Gram positivos esporulados, solos	

	SBH1AA M4	Cocos Gram positivos en racimo (Estafilococos)	
	SBH1AA M5	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
	SBH1AA M6	Bacilos Gram positivos esporulados en cadena (Streptobacilos)	
Mesa de la Cafetería	MeCaf4 M1	Bacilos Gram positivos esporulados en cadena	

	MeCaf4 M2	Bacilos Gram positivos en cadena, esporulados	
	MeCaf4 M3	Bacilos Gram positivos en cadena	
	MeCaf4 M4	Bacilos Gram positivos en cadena	
	MeCaf4 M5	Cocos Gram positivos en racimos	


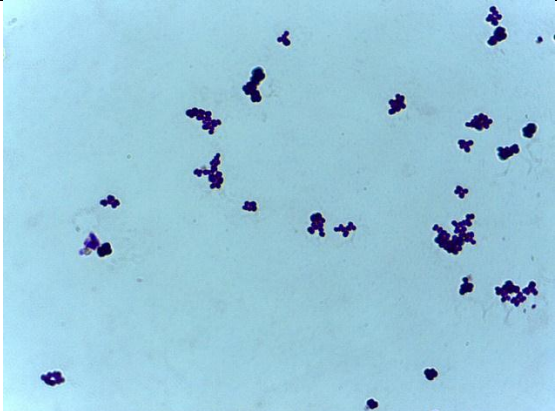
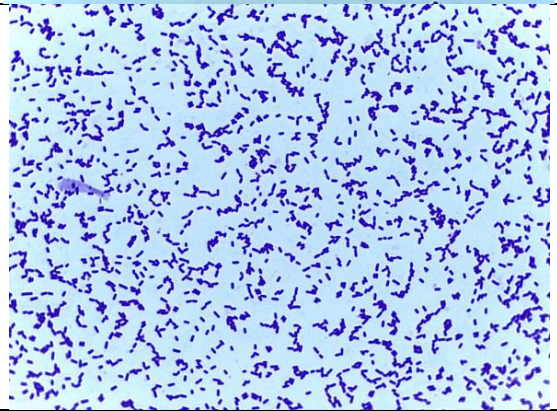
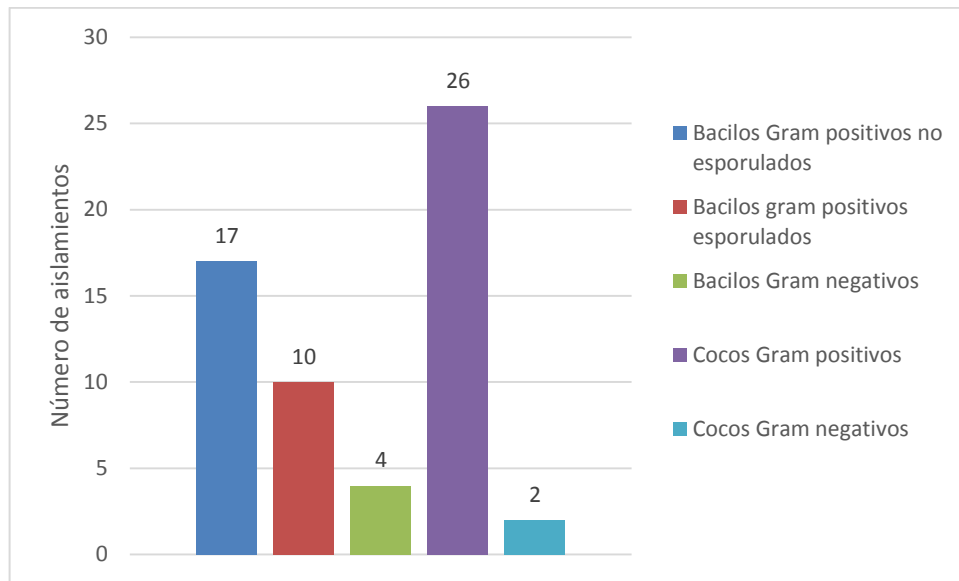
	MeCaf4 M6	Bacilos Gram positivos en cadena, esporulados	
	MeCaf4 M7	Cocos Gram positivos en racimos (Estafilococos)	
	MeCaf4 M8	Bacilos Gram positivos en cadena	
	MeCaf4 M9	Bacilos Gram positivos, solos	

Tabla 11. Descripción de la morfología celular del segundo muestreo



Gráfica 12. Morfotipos segundo muestreo

Identificación de morfotipos mediante pruebas bioquímicas

El signo positivo (+) significa que el microorganismo presentó reacción positiva frente a la prueba mientras que si aparece con signo negativo (-) significa que el microorganismo no presentó una reacción. En otras casillas donde aparece la letra x quiere decir que el microorganismo se comporta de esa manera en la prueba específica. Los resultados de las pruebas bioquímicas para cada microorganismo arrojan una identificación presuntiva apoyada en la descripción de características macro y microscópicas. Los microorganismos que aparecen sin identificar se deben a que las pruebas bioquímicas no fueron suficientes para llegar a obtener un resultado preciso tanto en género como en especie.

Primer muestreo

Código	Pruebas bioquímicas											Microorganismo identificado			
	Catalasa	Coagulasa	Manitol	Citrato	SIM	TSI	Anaerobio	Aerobio	Oxidasa	Úrea	Desaminación de Lisina		MIO	Movilidad a 25°C	

									H ₂ S	Motilidad	Indol			Facultativo	Estricto					Gas	Movilidad	Indol	Ornitina descarboxilasa		
2SBMAA M13	+	-	-											X											<i>S. epidermidis</i>
SBM2AA M6	+	-	+												X										<i>S. saprophyticus</i>
2SBMAA M10	+	-	+											X											<i>S. saprophyticus</i>
2SBMAA M11	+			-	-	-	-	A/A	X														+	<i>Listeria spp</i>	
SBM2AA M1	+			-	-	-	-	A/A	X																Sin identificar
SBM2AA M2	+	-	-	-	-	-	-	A/A	X														+	<i>Listeria spp</i>	
2SBMAA M9	+	-	-						X																<i>S. epidermidis</i>
SBM2AA M5	+	-	-																						<i>S. epidermidis</i>
SBM2AA M7	+	-	+						X																<i>S. saprophyticus</i>
2SBMAA M12	+		-	+	-	+	-	A/A	X																<i>Bacillus cereus</i>
2SBMAA M14	+	-	+						X																<i>S. saprophyticus</i>
SB2M2AA M1	+	-	-						X																<i>S. epidermidis</i>
OBH2 M1	+	-	+												X										<i>S. saprophyticus</i>
OBH2 M2	+	-	+												X										<i>S. saprophyticus</i>
OBH2 M3	+	-	-						X																<i>S. epidermidis</i>
2LMDA M1	+			+	-	-	-	A/K		X															Sin identificar
2LMDA M2	+		-	-	-	-	-	A/A	x														+	<i>Listeria spp</i>	
2LMDA M3	+	-	-						X																<i>S. epidermidis</i>
2SMDA M3	-			+	-	+	-	A/A		X															Sin identificar
2SMDA M5	+	-	-												X										<i>S. epidermidis</i>
2SMDA M1	+	-	+						X																<i>S. saprophyticus</i>
2LBHDA M1	+			-	-	+	-	A/A	X																Sin Identificar

2LBHDA M2	+	-	-						X															<i>S. epidermidis</i>
Mcaf1 M3	+	-	+						X															<i>S. saprophyticus</i>
Mcaf1 M6	+	-	-																					<i>S. epidermidis</i>
Mcaf1 M5	+	-	-	-	-	-	-	A/A	X													+		<i>Listeria spp.</i>
Mcaf1 M2	+	-	+							X														<i>S. saprophyticus</i>
Mcaf1 M7	+	-	+						X															<i>S. saprophyticus</i>
Mcaf1 M4	+	-	+							X														<i>S. saprophyticus</i>
Mecaf2 M9	+	-	-	-	-	-	-	A/A	X													+		<i>Listeria spp.</i>
Mecaf M4	+	-	-	-	+	-	A/A			X														Sin Identificar
Mecaf2 M10	+	-	-																					<i>S. epidermidis</i>
Mecaf2 M12	+	-	-																					<i>S. epidermidis</i>
Mecaf M2	+	-	+						X															<i>S. saprophyticus</i>
Mecaf2 M6	+	-	-						X															<i>S. epidermidis</i>
Mecaf2 M8	+	-	-						X															<i>S. epidermidis</i>
Mecaf M1	+	-	-	+	-	+	-	A/A		X														Sin identificar
Mecaf2 M13	+	-	+						X															<i>S. saprophyticus</i>
2LBMAA M2	+	-	-						X															<i>S. epidermidis</i>
2SBHDA M4	+	-	+							X														<i>S. saprophyticus</i>
2SBHDA M1	-	-	-	+	-	+	-	A/A	X															Sin Identificar
SB2HAA (1) M8	+	-	+	-	+	-	A/A	X																<i>Bacillus cereus</i>
SB2HAA M2	+	-	-	-	+	-	A/A	X																Sin Identificar
SB2HAA(2) M8	+	-	+						X															<i>S. saprophyticus</i>
SB2HAA(3) M5	+	-	+						X															<i>S. saprophyticus</i>
SB2HAA M4	+	-	+																					<i>S. saprophyticus</i>

SB2HAA (3) M7	+	-	+						X										<i>S. saprophyticus</i>
SB2HAA M3	+	-	-						X										<i>S. epidermidis</i>
SB2HAA(3) M6	+	-	-						X										<i>S. epidermidis</i>
SB2HAA(1) M9	+	-	-							X									<i>S. epidermidis</i>
SB2HAA (2) M10	+	-	-						X										<i>S. epidermidis</i>
SB2HAA M1	+	-	+						X										<i>S. saprophyticus</i>

Tabla 12. Identificación por pruebas bioquímicas (primer muestreo)

Pruebas bioquímicas segundo muestreo

Código	Pruebas bioquímicas															Identificación				
	Catalasa	Coagulasa	Manitol	Citrato	SIM			TSI	Anaerobio		Aerobio	Oxidasa	Urea	Desaminación de Lisina	MIO				Movilidad a 25°C	
					H ₂ S	Motilidad	Indol		Facultativo	Estricto					Gas		Movilidad	Indol		Ornitina descarboxilasa
LBHAr M1	+		+	+	-	+	-	A/A		x									No identificado	
LBHAr M2	+		+	+	-	-	-	A/A	X			-	-	-	-	-	-	-	<i>Klebsiella sp.</i>	
LBHAr M3	+				-	+	-	A/A	X			-							No Identificada	
LBHAr M4	+	-	+						X										<i>S. saprophyticus</i>	
SBM1AA M3	+	-	-						X										<i>S. epidermidis</i>	
SBM1AA M4	+		-	+	-	+	-	A/A		x									<i>Bacillus cereus</i>	
OBH1 M2	+	-	-						X										<i>S. epidermidis</i>	

LBM1DA M1	+				-	-	-	A/A	X			+								<i>Neisseria sp.</i>
LBM1DA M2	+	-	-						X											<i>S. epidermidis</i>
LBM1DA M3	+		-	+	-	+	-	K/K	X											<i>Bacillus cereus</i>
LBM1DA M4	+		-	-	-	-	-	A/A	X										+	<i>Listeria spp.</i>
LBM1DA M5	+	-	-						X											<i>S. epidermidis</i>
LBH1DA M1	+	-	-						X											<i>S. epidermidis</i>
LBH1DA M2	+		-	+	-	+	-	K/K	X			+	-	+	-	+	-	+		<i>Pseudomonas sp.</i>
LBH1DA M3	+		-	+	-	-	-	A/A	X			+	-	-	+	-	-	+		<i>Pasteurella sp.</i>
MeCaf3 M1	-		+	+	-	-	-	A/A	X											<i>Clostridium perfringens</i>
MeCaf3 M2	+		+	+	-	+	-	A/A	X											<i>Bacillus subtilis</i>
MeCaf3 M3	+	-	+		-	-	-		X			+								<i>Micrococcus sp.</i>
MeCaf3 M4	+	-	-						X											<i>S. epidermidis</i>
MeCaf3 M5	+		-	+	-	+	-	A/A		x										<i>Bacillus cereus</i>
MeCaf3 M6	+			+	-	+	-	A/A	X											No identificado
MeCaf3 M7	+	-	-						X											<i>S. epidermidis</i>
MeCaf3 M8	+			-	-	-	-	K/K												No identificado
LBM1AA M1	+	-	-						X											<i>S. epidermidis</i>
LBM1AA M2	+	-	-						X											<i>S. epidermidis</i>
SBHAr M1					-	-	-	K/K												No identificado
SBHAr M2	+	-	+						X											<i>S. saprophyticus</i>
SBHAr M3	+	-	-							x										<i>S. epidermidis</i>
SBH1DA M1	+	-	-								x									<i>S. epidermidis</i>
SBH1DA M2	+	-	+									x								<i>S. saprophyticus</i>
SBH1DA M3	+	-	-										x							<i>S. epidermidis</i>

OBHAr M1	+		-	+	-	+	-	A/A		x											<i>Bacillus cereus</i>
OBHAr M2	+	+	+								x										<i>S. aureus</i>
OBHAr M3	+	-	+								x										<i>S. saprophyticus</i>
OBHAr M4	+		+	-	-	-	-	A/A	X			-	-							+	<i>Listeria spp.</i>
OBHAr M5	+	-	-						X												<i>S. epidermidis</i>
SBMAr M1	+		-	+	-	+	-	A/A	x												<i>Bacillus cereus</i>
SBMAr M2	+		+	-	-	-	-	A/A	x											+	<i>Listeria spp.</i>
SBMAr M3	+	-	+		-	-	-		x			-									No identificado
SBMAr M4	+		-	+	-	+	-	A/A	x												<i>Bacillus cereus</i>
SBMAr M5	+	-	-						x			-									<i>S. epidermidis</i>
LBH1AA M1	+		-	+	-	-	-	K/K	x											+	<i>Listeria spp.</i>
LBH1AA M2	+	-	-	+	-	-	-	K/K	x											+	<i>Listeria spp.</i>
LBH1AA M3	+		-	+	-	-	-	K/K	x											+	<i>Listeria spp.</i>
LBMAr M1	+		-	+	-	+	-	A/A			x	+	-								No identificado
LBMAr M2	+	-	+								x										<i>S. saprophyticus</i>
LBMAr M3	+		+	-	-	-	-	K/K	x											+	<i>Listeria spp.</i>
LBMAr M4	+			+	-	-	-	K/K	x			+		+	+	+	-	+			No identificado
SBH1AA M1	+		-	+	-	+	-	A/A	x												<i>Bacillus cereus</i>
SBH1AA M2	+		+	+	-	+	-	A/A	x											+	<i>Listeria spp.</i>
SBH1AA M3	+		+	-	-	+	-	K/K			x										<i>Bacillus spp.</i>
SBH1AA M4	+	-	+						x												<i>S. saprophyticus</i>
SBH1AA M5	+	-	+						x												<i>S. saprophyticus</i>
SBH1AA M6	+		-	+	-	+	-	A/A		x											<i>Bacillus cereus</i>
MeCaf4 M1	+		+	+	-	-	-	A/A			x	-									No identificado

MeCaf4 M2	-		-	-	+	-	A/A	x											<i>Clostridium botulinum</i>
MeCaf4 M3	-		+	-	-	-	K/K	x											No identificado
MeCaf4 M4	+	+	-	-	-	-	K/K	x										+	<i>Listeria spp.</i>
MeCaf4 M5	+	-	-					x											<i>S. epidermidis</i>
MeCaf4 M6	-		-	-	-	-	A/A	x											<i>Clostridium perfringens</i>
MeCaf4 M7	+	-	-					x											<i>S. epidermidis</i>
MeCaf4 M8	+		+	-	+	*	K/K	x											No identificado
MeCaf4 M9	+	+	-	-	-	-	K/K	x		-	-							+	<i>Listeria spp.</i>

Tabla 13. Identificación por pruebas bioquímicas (segundo muestreo)

Pruebas adicionales

Las pruebas adicionales constituyen todas las características de crecimiento en medios selectivos y diferenciales dicha información registrada en las tablas 12 y 13 constituyen una parte fundamental de la identificación ya que sirven como apoyo a las pruebas bioquímicas

Primer muestreo

Código	Agar	
	McConkey	Sangre
SB2HAA (1) M8		Colonias translúcidas lisas con un halo amarillo fuerte (Beta hemólisis)
Mcaf1 M5		Colonias translúcidas lisas con un halo amarillo fuerte (Beta hemólisis)
SB2HAA M2		Colonias blancas lisas con halo transparente alrededor
Mecaf2 M9		Colonias translúcidas con un halo amarillo alrededor
2SBMAA M11		Colonias blancas lisas sin hemólisis
SBM2AA M1		Colonias translúcidas con un halo amarillo alrededor
SBM2AA M2		Colonias translúcidas con un halo amarillo alrededor
2SBHDA M1		Colonias amarillentas rugosas con un

		halo amarillo fuerte (Beta hemólisis)
2SBMAA M12		Colonias traslúcidas con un halo amarillo alrededor
Mecaf M1		Colonias blancas rugosas con un halo transparente alrededor

Tabla 14. Pruebas adicionales primer muestreo

Segundo muestreo

Código	Agar				
	McConkey	EMB	Sangre	Salmonella Shigella	Mueller Hinton
LBHAr M2	Las colonias son rosadas húmedas y el medio se vuelve traslúcido	Colonias color rosadas con un halo verde metálico a los alrededores		Colonias color rosa con vivos naranjas, vira el medio a naranja claro	
LBHAr M3			sin hemolisis ni viraje del medio, colonias color gris		
SBM1AA M1	Inhibición				
SBM1AA M4			colonias amarillas sin halo, no viran el medio		
LBM1DA M1			sin hemolisis ni viraje del medio, colonias color gris		
LBM1DA M3			Colonias beige con un halo amarillo muy tenue alrededor		
LBH1DA M2	Colonias incoloras, transparentes, hay viraje del medio		Colonias oscuras lisas con un halo transparente alrededor		Colonias verde claro, transparentes, viraje del medio a tono oscuro, colonias brillantes, irregulares, de 1 a 3mm,
LBH1DA M3	Las colonias son incoloras y hacen que el medio vire a un color naranja.	Colonias incoloras y el medio no vira de color	Colonias transparentes, alfa-hemólisis	Colonias color rosa con vivos naranjas, vira el medio a naranja claro.	Muy poco crecimiento, no viraje del medio, colonias puntiformes beige,

MeCaf3 M1			Colonias transparentes con un halo amarillo alrededor		
MeCaf3 M2	Inhibición		Colonias transparentes o translúcidas con un halo amarillo alrededor		
MeCaf3 M5			Colonias oscuras lisas con un halo amarillo alrededor		
MeCaf3 M7			Colonias color amarillo, brillantes, no hemolisis		
MeCaf3 M8	Inhibición				
LBM1AA M2			Colonias color blanco, brillantes, no hemolisis		
SBHAr M2			Colonias color beige, brillantes, no hemolisis		
OBHAr M1			Colonias beige con un halo transparente alrededor		
OBHAr M2			Colonias de aspecto transparente sin hemólisis		
OBHAr M4	Inhibición		Colonias blanco-gris, no hemólisis		
SBMAr M1			Colonias transparentes con un halo amarillo alrededor		
SBMAr M2			Colonias translúcidas B-hemólisis		
SBMAr M4			Colonias beige con un halo amarillo alrededor		
LBH1AA M1			Colonias grises, no hemólisis		

LBH1AA M2			Colonias traslúcidas B-hemólisis		
LBMAr M1			Colonias verdes transparentes, alfa-hemólisis		
LBMAr M3			Colonias amarillas, B-hemólisis		
LBMAr M4	Las colonias son incoloras y hacen que el medio vire a un color naranja.	Colonias incoloras y el medio no vira de color		Viraje del medio a rosa muy transparente, colonias brillantes, lisas, con centro verdoso y exterior rosa, en algunos sectores el centro es ennegrecido, apariencia metálica.	No viraje del medio, colonias beige claro, brillantes con borde ondulado
SBH1AA M1			Colonias beige con un halo amarillo alrededor		
SBH1AA M2			Colonias blanco-gris, B-hemólisis		
SBH1AA M3	Inhibición		Colonias blancas rugosas con halo verdoso (Alfa Hemólisis)		
SBH1AA M6			Colonias blancas con un halo transparente alrededor		
MeCaf4 M2			Colonias beige o blancas con un halo amarillo alrededor		
MeCaf4 M3	Inhibición				
MeCaf4 M4			Colonias blanco-gris, B-hemólisis		
MeCaf4 M6			Colonias beige o blancas con un halo amarillo alrededor		
MeCaf4 M9			Colonias blanco-gris, no hemólisis		

Tabla 15. Pruebas adicionales segundo muestreo

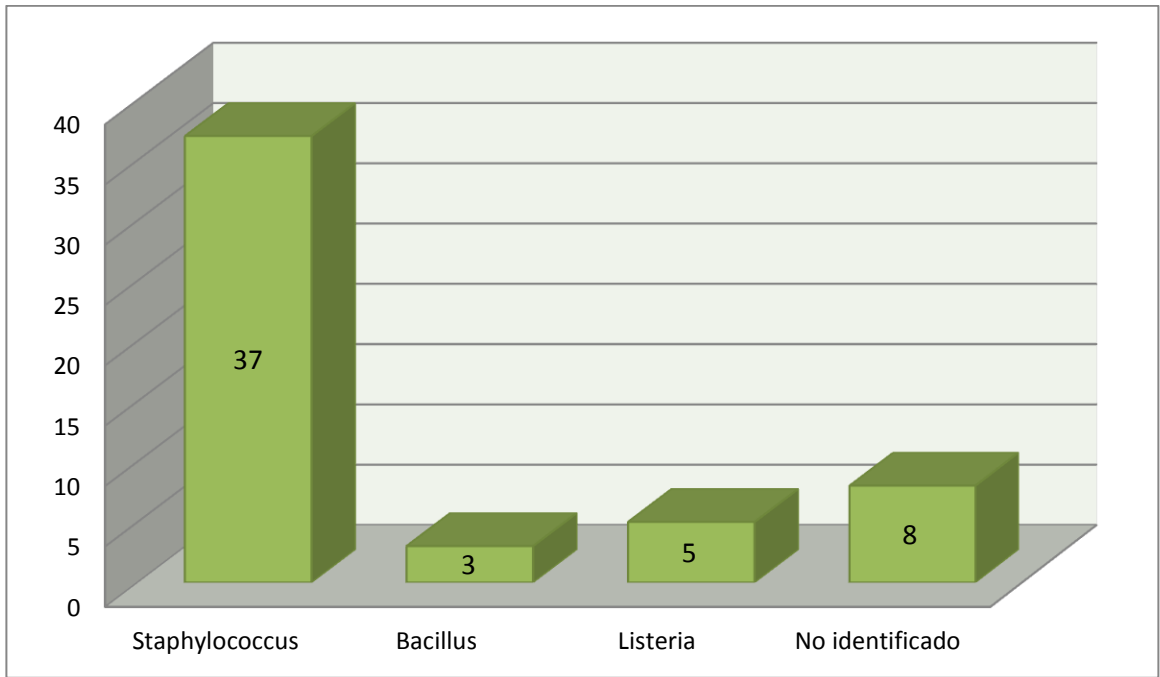
Géneros y especies

En la siguiente tabla se detallan las especies y géneros identificados mediante las descripciones morfológicas y las pruebas bioquímicas. Aquí se especifica la cantidad de morfotipos que pertenecen tanto a los géneros como a las especies e incluso aparecen las no identificadas. En las siguientes gráficas y tablas se evidencian los distintos géneros y especies halladas y la cantidad de morfotipos que hacen parte de cada uno. Esto se logró a partir de las pruebas realizadas durante todo el proyecto.

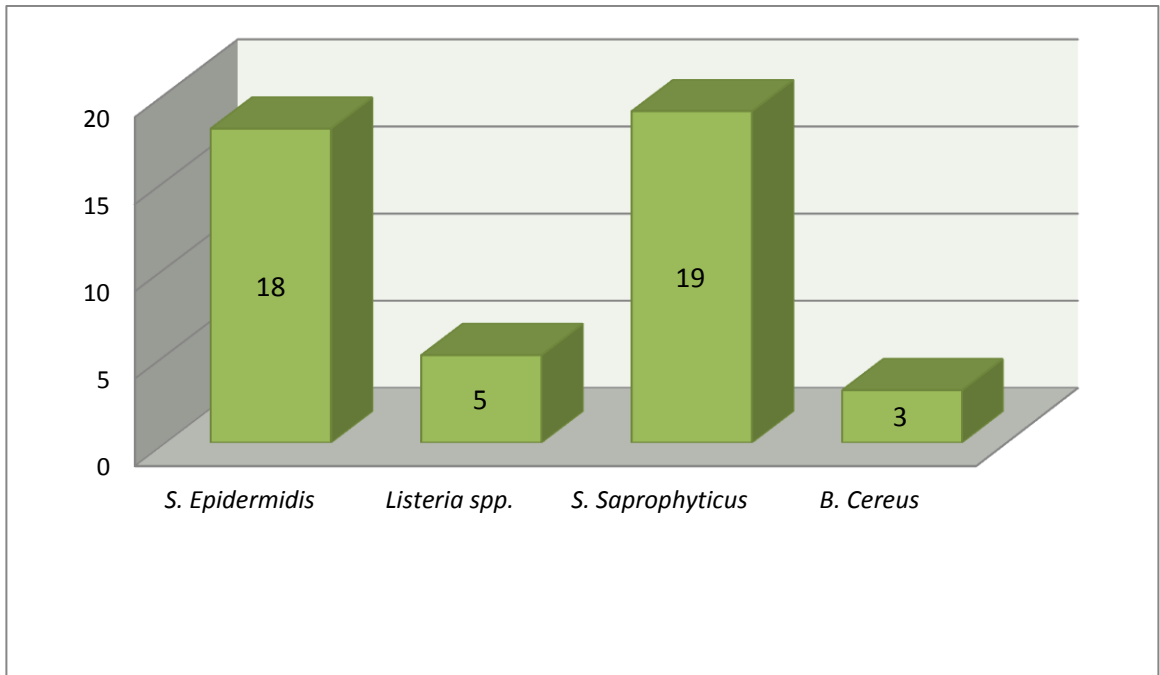
Primer muestreo

Género	Especies	Morfotipos encontrados
<i>Staphylococcus</i>	<i>Saprophyticus</i>	19
	<i>Epidermidis</i>	18
<i>Bacillus</i>	<i>Cereus</i>	3
<i>Listeria</i>	<i>Listeria spp.</i>	5
No identificado		8

Tabla 16. Géneros y especies primer muestreo



Gráfica 13. Géneros encontrados primer muestreo.

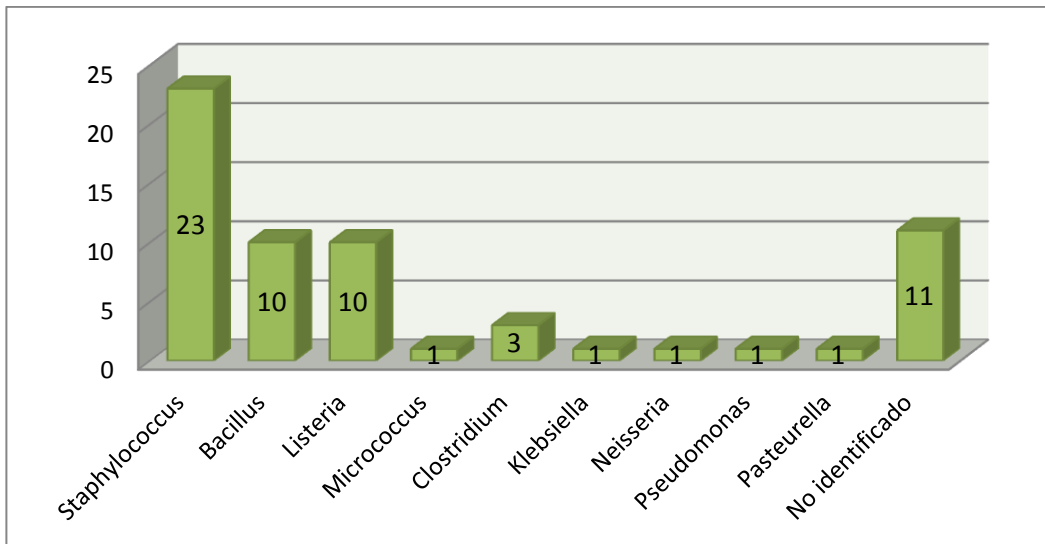


Gráfica 14. Especies encontradas primer muestreo.

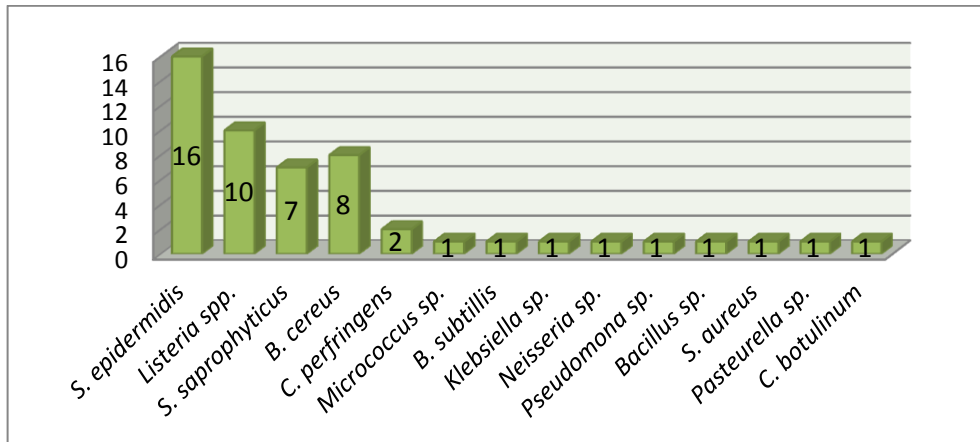
Segundo muestreo

Género	Especies	Morfotipos encontrados
<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i>	1
	<i>saprophyticus</i>	7
	<i>epidermidis</i>	16
<i>Bacillus</i>	<i>cereus</i>	8
	<i>subtilis</i>	1
	<i>Bacillus sp.</i>	1
<i>Clostridium</i>	<i>perfringens</i>	2
	<i>botulinum</i>	1
<i>Listeria</i>	<i>Listeria spp.</i>	10
<i>Klebsiella</i>	<i>Klesiella sp.</i>	1
<i>Neisseria</i>	<i>Neisseria sp.</i>	1
<i>Pseudomona</i>	<i>Pseudomona sp.</i>	1
<i>Pasteurella</i>	<i>Pasteurella sp.</i>	1
<i>Micrococcus</i>	<i>Micrococcus sp.</i>	1
No identificado		11

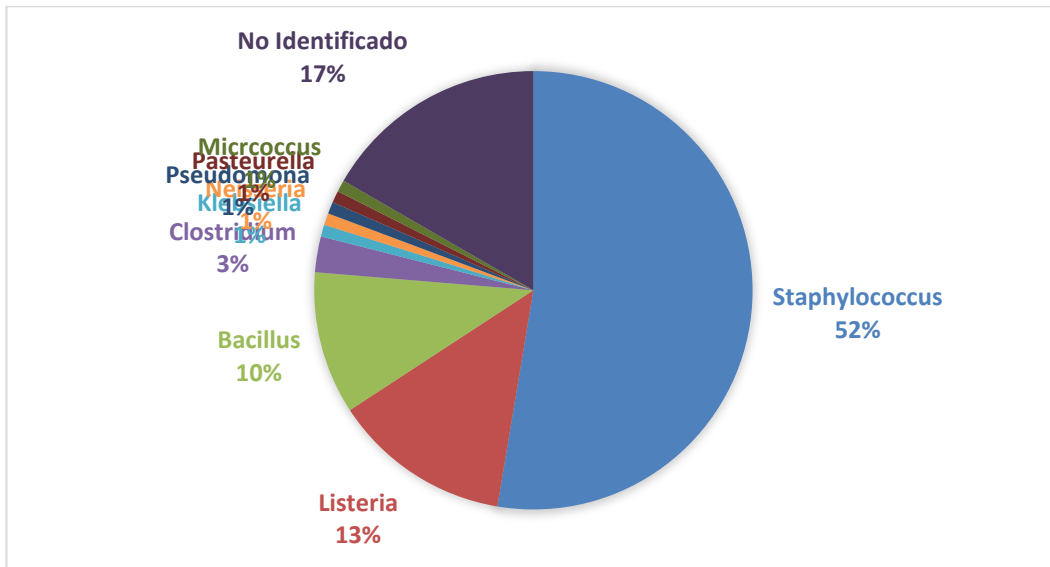
Tabla 17. Géneros y especies segundo muestreo.



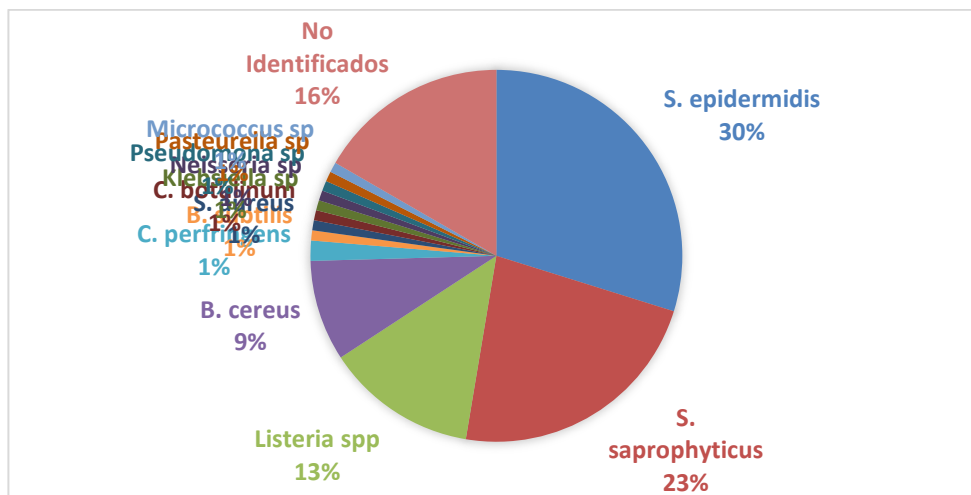
Gráfica 15. Géneros encontrados segundo muestreo.



Gráfica 16. Especies encontradas segundo muestreo.



Gráfica 17. Porcentaje de aparición de géneros



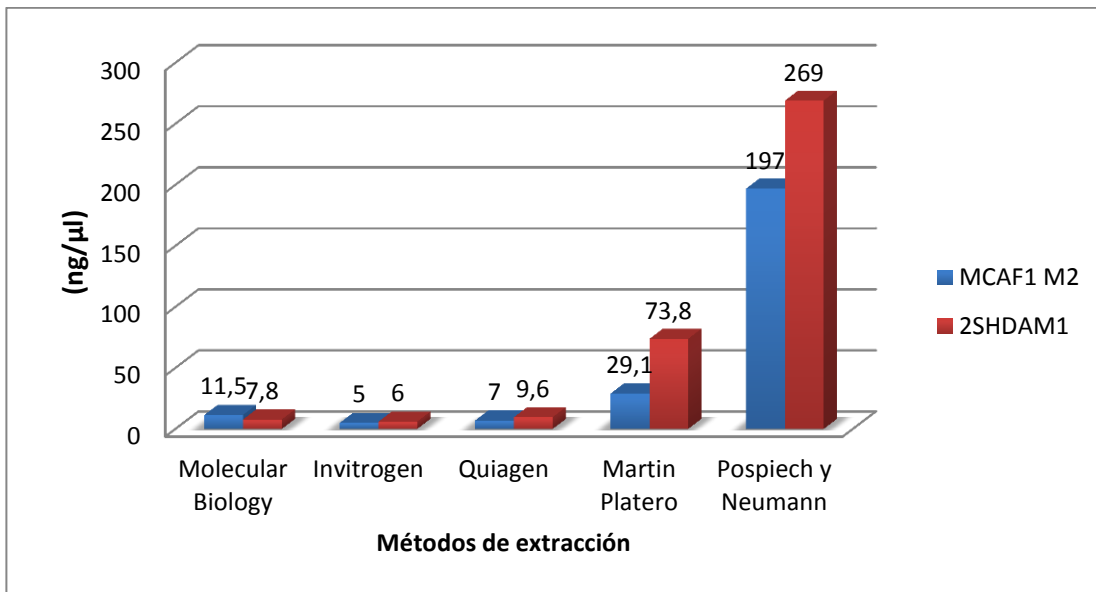
Gráfica 18. Porcentaje de aparición de especies.

Extracción de ADN

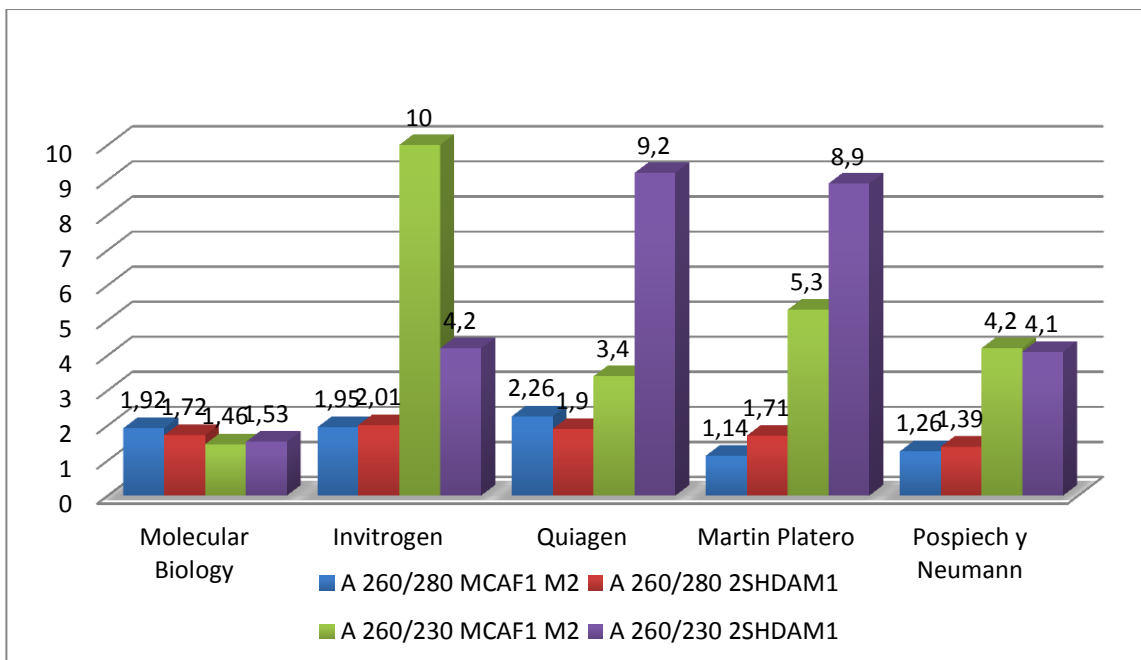
Esta sección muestra los resultados obtenidos en cuanto a la extracción de ADN, que sirvió además de extraer el material genético bacteriano para una posterior amplificación como base para la identificación mediante técnicas moleculares; también para evaluar la eficacia de tres métodos comerciales mediante la utilización de kits de extracción frente a dos métodos manuales y así elegir entre esos 5 métodos el más conveniente desde el punto de vista de calidad, cantidad e integridad del ADN extraído.

Tipo	Método de extracción de ADN	Muestra	ADN (ng/μl)	Absorbancia 260/280 (nm)	Absorbancia 260/230 (nm)
Comerciales	Molecular Biology	MCAF1 M2	11,5	1,92	1,46
		2SHDAM1	7,8	1,72	1,53
	Invitrogen	MCAF1 M2	5,0	1,95	10
		2SHDAM1	6,0	2,01	4,2
	Quiagen	MCAF1 M2	7	2,26	3,4
		2SHDAM1	9,6	1,90	9,2
Manuales	Martin Platero	MCAF1M2	29,1	1,14	5,3
		2SMDAM1	73,8	1,71	8,9
	Pospiech y Neumann	MCAF1M2	197	1,26	4,2
		2SMDAM1	269	1,39	4,1

Tabla 18. Cantidad y calidad de ADN extraído



Gráfica 19. Cantidad de ADN extraído (ng/μl)



Gráfica 20. Calidad de ADN extraído: relaciones de absorbancia 260/280 y 260/230

La integridad del ADN se evaluó mediante electroforesis horizontal en gel de agarosa al 1%, teñido con *syber green*, utilizando un marcador de peso molecular (*Low DNA Mass Ladder*), como referencia. La electroforesis corrió con

amortiguador TE (100 mM Tris-HCl pH 8.0, 50 mM EDTA pH 7.0) por 1 hora a 80 V. y visualizado en un transiluminador de UV, la imagen se almacenó en un equipo foto-documentador (*E-Gel Imager gel documentation system (Invitrogen - Thermo Fisher Scientific)*), utilizando el programa *GelQuant Express Analysis Software is a Windows*.

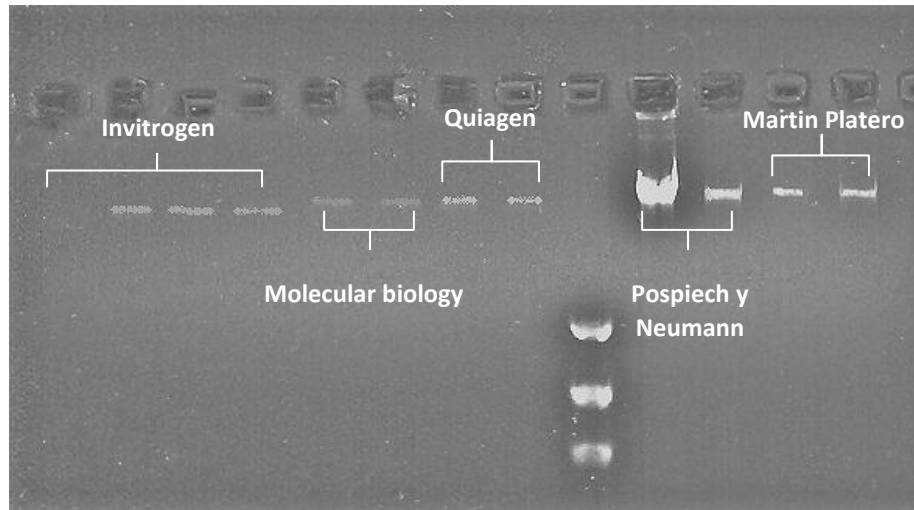


Imagen 9. Gel de agarosa al 1%, las bandas nítidas representan el ADN con los diferentes protocolos evaluados

Divulgación de los Resultados

Luego de obtener las identificaciones de género y especie, desde el punto de vista bioquímico, se diseñó un folleto (anexo D) donde se exponen las diferentes bacterias aisladas en todos los sitios de muestreo. Esta divulgación se hizo con diferentes estudiantes del programa de Ciencias Naturales (Figura 10), estudiantes de otras carreras (Figura 11) y lo más importante con el personal de aseo (Figura 12), a quienes se les enfatizó en mejorar el aseo en los lavamanos por la cantidad de UFC/placa encontradas en los dos muestreos.



Imagen 10. Divulgación con estudiantes del programa



Imagen 11. Divulgación con estudiantes de otros programas



Imagen 12. Divulgación con el personal de Aseo

1.6.1 ANÁLISIS DEL DESARROLLO DEL PROYECTO

Flujo de personas en sitios de muestreo

La tabla 1 y la gráfica 1 muestran los resultados obtenidos del conteo de personas que ingresan a las diferentes baterías sanitarias de la Universidad; la Facultad de Educación, por ser la más grande y estar ubicada en la zona central del campus, es la que recibe mayor flujo de personas en un mismo lapso de tiempo superando por mucho a las demás Facultades. Dentro de la misma Facultad, existen baterías sanitarias en cada uno de los pisos, pero los del primer piso, por ser más accesibles, tienen una afluencia alta de personas, pues en el baño de mujeres se tiene un flujo de casi una persona por minuto, mientras que en el de hombres es de 1,36 personas por minuto, lo anterior se traduce en que estos sitios están constantemente en uso durante toda la jornada académica. Como las demás Facultades presentan un flujo bajo de personas en las baterías sanitarias, en este caso y para efectos de sólo una comparación entre sitios con alta y baja afluencia de personal, se eligieron las baterías del primer y segundo piso de la Facultad de Educación como objetivo principal de la presente investigación, mientras que el edificio de Artes se eligió como comparación ya que en ésta se presenta baja afluencia de público.

Recuento de colonias e identificación de morfotipos

Primer muestreo

La gran cantidad de UFC/placa aisladas de los lavamanos, específicamente de las manijas de las llaves, se debió a que después de que las personas encargadas del aseo cogen estas manijas para sacar el agua con la que lavan los traperos, haciendo que las bacterias que han quedado en los guantes pasen de nuevo a las manijas. Por otro lado, algunos de los sanitarios y orinales presentan, relativamente, un recuento bajo de UFC/placa, contrario a lo que se podía creer, las mesas y mesones presentan una cantidad significativa de UFC/placa; esto se debe a que en los sanitarios y orinales se mantiene un constante aseo, mientras que en las mesas y mesones de la cafetería no se hace un aseo constante ni preciso; además, hay un mayor flujo de personas en la cafetería que entrando a los baños, lo que genera que la cantidad de bacterias aumente por el tránsito que allí existe.

Al comparar la carga bacteriana presente en las baterías sanitarias antes y después de las maniobras de aseo, se evidencia una notable reducción en la carga bacteriana después del aseo en los sanitarios, debido a que dicho procedimiento se realiza empleando detergente e hipoclorito de sodio, este último tipo de compuesto se caracteriza por ser un desinfectante ampliamente usado en la limpieza de superficies, debido a su amplio espectro, es altamente eficaz en la eliminación de bacterias Gram positivas y Gram negativas, además de actuar con cierta eficiencia sobre esporas de resistencia (Forsythe y Hayes P. 2002 citado en: Rojas C. 2007), mientras que los detergentes, atacan la membrana celular de las bacterias causándole daños estructurales importantes, lo que conlleva a la interrupción de procesos vitales para la supervivencia de dichos microorganismos causándoles por último la muerte (Troya J. 2007); es decir, que ambos compuestos representan una herramienta bastante útil a la hora de eliminar bacterias de las superficies, tal y como sucedió en los sanitarios.

El hecho de que aún después de emplear agentes antimicrobianos y realizar maniobras en pro de la desinfección existan microorganismos en las superficies, se debe principalmente a dos razones: primero que dichas técnicas no se realicen de manera óptima, y segundo, es que existe una gran cantidad de microorganismos resistentes a diversas situaciones que pueden resultar adversas para ellos, en el caso de la adherencia a superficies los microorganismos forman los llamados “biofilms”, que no son más que un conjunto de microorganismos agrupados y adheridos a una superficie, lo que les brinda una excelente estrategia de supervivencia ya que las bacterias se protegen contra cambios drásticos de humedad y temperatura y les brinda protección frente a la acción de desinfectantes y otros agentes potencialmente mortales para ellas; además, de ofrecerles una cantidad de nutrientes suficiente para sobrevivir. Cuando algún factor externo influye sobre un biofilm, éste puede desprenderse y llevarse consigo nutrientes que le permitan proliferar en un lugar diferente al original (Rios A., 2013).

En relación con los lavamanos, en uno de ellos persiste el recuento mayor a 300 UFC/placa, mientras que para los dos restantes, la carga microbiana aumentó de manera drástica. Este resultado puede explicarse debido a que para los sanitarios, las maniobras de aseo corresponden a desinfección mediante fregado y adición de detergente y solución de hipoclorito de sodio, lo que confiere el poder de desinfección para dichas superficies. Si bien para los lavamanos las maniobras de limpieza se repiten, existe una práctica que resulta obligada para el personal de aseo: debido a la inexistencia de sitios para el suministro de agua diferentes a los

lavamanos, el personal debe sacar el líquido de esos últimos, abriendo y cerrando constantemente las manijas con los guantes ya utilizados para la limpieza del resto de las superficies, es decir, se evidencia muy seguramente un caso de contaminación cruzada, en donde existe un arrastre de la microbiota desde las superficies, a través de los guantes, hacia los lavamanos. Esta situación es preocupante debido a que las manijas de los lavamanos son la última superficie con la que las personas tienen contacto antes de salir de estos sitios y las manos son un sitio de contacto permanente con alimentos, mucosas y con otros seres humanos.

En cuanto a los morfotipos encontrados antes y después del aseo (gráfica 4), se observa una disminución de los mismos después de la limpieza, a excepción de un par de lavamanos en donde aumentó el número de UFC/placa, cuestión que ha sido descrita anteriormente. Para este muestreo, podemos decir que la mayoría de formas bacterianas encontradas corresponden a cocos con un 62%, mientras que el restante 38% corresponden a bacilos, tal como se muestra en la gráfica 5; los cocos Gram positivos fueron los más abundantes y luego los bacilos Gram positivos no esporulados, con poca frecuencia de aparición los bacilos Gram positivos esporulados y bacilos Gram negativos y la completa ausencia de cocos Gram negativos; este resultado se debe a que normalmente según (García et al, 1996) “la flora predominante de la piel y de las mucosas comprenden bacterias como *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Streptococcus* y en menor proporción *Neisseria* no patógenas y bacilos difteroides”.

Segundo muestreo

Los lavamanos tanto de la Facultad de Educación justo después del aseo (LBH1DA) y después de la hora pico (LBH1AA) además de los lavamanos del edificio de artes (LBHAr y LBMAr), presentan recuentos superiores a las 300 UFC/placa, es decir que no existe diferencia entre el antes y el después de la limpieza en cuanto a los lavamanos se refiere, pues en estos la carga microbiana se mantiene igual, fenómeno encontrado en el primer muestreo y que se explicó por las normas de aseo empleadas por el personal; en el caso de uno de los lavamanos del baño de mujeres de la Facultad de Educación, justo después del aseo (LBM1DA), se encontraron 209 UFC/placa, mientras que después de ser usado por una gran cantidad de personas (LBM1DA), presenta una disminución significativa de la carga microbiana, ya que sólo se encontraron 17 UFC/placa. Este resultado puede atribuirse a un fenómeno de arrastre o pérdida de viabilidad, eso en cuanto a la disminución de la carga y en cuanto a la evidente

contaminación de los lavamanos antes y después del aseo. También como ya se había mencionado, debido a la inexistencia de dispensadores de agua exclusivos para efectuar el aseo de todas las superficies existe una contaminación cruzada entre el lavamanos y el trapero sucio ya que allí los limpian; se denomina así porque de acuerdo con (Ferlotti, 2015) “la contaminación cruzada ocurre cuando se pasan microorganismos de una superficie a otra o de un alimento a una superficie”. Para el caso de los sanitarios identificados con los códigos SBH1AA, SBH1DA, SBM1AA y SBM1DA, presentan un notable aumento de las UFC/placa después del uso durante un prolongado tiempo, respecto a la carga detectada justo después del aseo. Lo anterior es de esperarse en este tipo de sitios ya que quienes los usan conviven con una cantidad considerable de bacterias en diferentes partes del cuerpo como la piel, el tracto gastrointestinal y genitourinario, las mucosas, entre otros, que luego tendrán contacto directo e indirecto con las superficies en cuestión.

En la tabla 5 y las gráficas 8 y 9, podemos apreciar que justo después de que las baterías sanitarias fueron reabiertas, es decir después del aseo, el número de morfotipos y el número de UFC/placa encontrados fue mucho menor en comparación con las mismas encontradas después de que la gran cantidad de personas hizo uso de estos sitios, es decir antes del aseo; existe una estrecha relación entre la afluencia de público y la carga microbiana presente en los lugares que fueron muestreados, debido a que los seres humanos convivimos con una gran cantidad de bacterias diferentes, las cuales se adhieren a las superficies con las que tenemos contacto diariamente, muchas de ellas tienen la capacidad de sobrevivir y adaptarse a las condiciones de dichos lugares, y de eso, depende su supervivencia o muerte después de abandonar las superficies corporales, por lo que es normal encontrar un aumento en la carga microbiana en superficies que han estado en contacto con el ser humano.

En cuanto a los morfotipos encontrados (Gráfica 10), existe una diferencia marcada entre los que responden como positivos a la tinción de Gram, que son la gran mayoría, y los que lo hacen de manera negativa, representando apenas unos pocos morfotipos. Los bacilos Gram positivos representan el mayor número de morfotipos (31 de 63), los cocos Gram positivos correspondieron a 26, mientras que de los cocos Gram negativos y bacilos Gram negativos, fueron 2 y 4 morfotipos, respectivamente.

Géneros y especies

Para cada género y especie encontrada se explican las características bioquímicas y morfológicas que permitieron su identificación, así como los aspectos relevantes de su hábitat, propiedades de patogenicidad y usos.

Género *Bacillus*

Como se puede ver en la gráfica 17, el 13% de las bacterias encontradas corresponden a bacilos Gram positivos formadores de esporas de los cuales el 10% se identificaron como *Bacillus*; conforme a la Fundación Vasca para la seguridad Alimentaria (sf) “el género *Bacillus* comprende bacterias Gram-positivas productoras de esporas y formadoras de toxinas termoestables”. De las 34 especies existentes que Macedo (sf) nombra, dos de ellas se identificaron en esta investigación *B. cereus* y *B. subtilis*

Bacillus cereus

De acuerdo a la gráfica 18, los *B. cereus* presentaron cinco veces mayor frecuencia de aparición en los dos muestreos en comparación con los *B. subtilis*. Durante el primer muestreo se encontraron colonias de *B. cereus* en los sanitarios tanto de los baños de las mujeres como de los hombres antes de hacerse el aseo; mientras que para el segundo muestreo se encontraron colonias en el sanitario del baño de mujeres y hombres antes del aseo, en las mesas de la cafetería, en los lavamanos del baño de las mujeres después del aseo, en los sanitarios del baño de las mujeres del edificio de artes y en los orinales de los baños de hombres de este mismo lugar, teniendo en cuenta que los dos últimos lugares donde se encontraron estas bacterias habían sido tomados como sitios de control debido a la poca afluencia de personas que entraban a usarlos. Teniendo en cuenta lo que dice la Fundación Vasca para la Seguridad Alimentaria (sf) “*B. cereus* es una bacteria que está ampliamente distribuida en el medio ambiente, sobretodo en el suelo y las esporas en el polvo”; según lo anterior, se puede afirmar que sería común encontrar bacilos de esta especie en muchos sitios, ya que sus esporas son transportadas por las corrientes de aire y llegan a lugares como los muestreados en esta investigación; además, al no ser exigentes en su nutrición pueden crecer fácilmente.

Especie	Catalasa	Manitol	Citrato	Movilidad	H ₂ S producido	Indol	TSI	Crecimiento
<i>B. cereus</i>	+	-	+	+	-	-	A/A	Anaerobio
<i>B. subtilis</i>	+	+	+	+		-		Aerobio

Tabla 19. Pruebas bioquímicas para la identificación del género *Bacillus* (García A. y M. Zamudio.1998)

Desde el punto de vista bioquímico, los *Bacillus* se diferencian en primera instancia de otros géneros de bacilos Gram positivos esporulados como lo plantea (Koneman, 2008) “en que son capaces de descomponer el peróxido de hidrógeno” o en otras palabras que son catalasa positivos; luego, para poder diferenciar entre sus especies como *Bacillus cereus* y *Bacillus subtilis* se tuvo en cuenta pruebas consignadas en la tabla 10 y 11 que luego se compararon con las pruebas descritas por el texto de (Koneman, 2008); en estas pruebas efectuadas se ve la diferencia en la fermentación de manitol, la no producción de ácido sulfhídrico ni de indol, además de ver que crecieron en el fondo del caldo de tioglicolato donde hay poca cantidad de oxígeno disponible (anaerobiosis), según lo expuesto en el anexo B.

Aunque *B. cereus* es un bacilo Gram positivo esporulado, se debe tener mucha precaución porque es patógeno y de acuerdo con (Macedo, sf) “*B. cereus* es agente de toxiinfección alimentaria, capaz de producir una enterotoxina termoestable que produce vómito y una termolábil responsable del síndrome diarreico”. Por la importancia de estas toxinas, la (Fundación Vasca para la Seguridad Alimentaria, sf) las separa en dos grupos que “son la intoxicación emética debida a la ingesta de la toxina formada en el alimento y la toxiinfección gastrointestinal debida a la ingesta de células y esporas de *B. cereus* que producen enterotoxinas en el intestino delgado”.

Bacillus subtilis

De los muestreos realizados, en el primero de ellos no se aisló *B. subtilis*, mientras que en el segundo muestreo se aisló una colonia correspondiente a este microorganismo; estos aislamientos correspondieron a una de las mesas de la

cafetería y al sanitario del baño de hombres antes de hacer el aseo. Comúnmente esta clase de microorganismo se encuentra en el suelo y está ampliamente distribuido en la naturaleza tal como lo expone (Espinosa J. sf), además se encuentra frecuentemente en el polvo y se propaga por medio del aire (Macedo, sf).

Al revisar de nuevo el factor aseo, se puede decir que antes de él se aislaron muy pocas colonias e este microorganismo y después de realizadas las maniobras de aseo no se aisló colonia alguna, a pesar de la resistencia a la desecación y a los desinfectantes que les confiere sus esporas.

Desde el punto de vista bioquímico, como se observa en las tablas 10 y 1, sólo se diferenció *B. subtilis* de *B. cereus* en la fermentación positiva del manitol y en el crecimiento en la superficie del caldo tioglicolato tal como se explica en el anexo B lo que quiere decir que necesita de oxígeno para poder sobrevivir. (Koneman, 2008). Este bacilo esporulado puede causar enfermedades en pacientes inmunodeprimidos según (Macedo, sf)

Género *Clostridium*

Según la gráfica 17 se observa que sólo el 3% del total de los géneros encontrados corresponde al género *Clostridium* y al igual que los *Bacillus* según (Arias et al 2002) “son bacilos Gram positivos esporulados, muy resistentes a los agentes externos”. Estos aislamientos sólo se encontraron en el segundo muestreo en las mesas de la cafetería, un lugar poco común porque de acuerdo a lo expuesto por el mismo (Arias et al 2002, p 279) “forman parte de la flora normal de las cavidades del hombre. A partir de heces, contaminan el suelo donde esporulan rápidamente para poder resistir”. Lo anterior permite deducir que estas bacterias se encontraron en las mesas de la cafetería debido a que los usuarios al salir del baño no hicieron un correcto lavado de manos y allí las transportaron hasta donde comen, tomando los alimentos con las manos sucias y dejándolas en los residuos de comida; la esporulación les permite sobrevivir varios días en esos fómites hasta que llegue otra persona que los transporte.

Aquí, a diferencia de otros aislamientos, no se puede tener en cuenta el factor aseo, ya que las mesas mantienen en contacto con residuos de comida y cuando los recogen no se hace ningún tipo de limpieza con desinfectantes.

Desde el punto de vista bioquímico, de acuerdo a lo consignado en la tabla 10 y 11 se puede decir que estos bacilos esporulados se diferencian del género *Bacillus* en que no poseen la enzima catalasa, la cual descompone el peróxido de

hidrógeno (Koneman, 2008); es decir, son catalasa negativos. El género *Clostridium* comprende más de 100 especies entre las cuales están *C. perfringens*, *C. botulinum*, *C. tetani* y *C. difficile* (Arias et al 2002, p 279), las cuales son las más frecuentes en el ser humano y en esta investigación se aislaron dos de ellas: *C. perfringens* y *C. botulinum*. Estas dos especies de *Clostridium* se pueden diferenciar en la siguiente tabla:

Prueba Especie	Catalasa	SIM			TSI	Tioglicolato
		H ₂ S	Mov.	Indol		
<i>C. perfringens</i>	-	-	-	-	A/A	Anaerobio facultativo o estricto
<i>C. botulinum</i>	-	-	+	-	A/A	Anaerobio facultativo o estricto

Tabla 20. Pruebas bioquímicas para la identificación del género *Clostridium* (García A. y M. Zamudio.1998)

Para la diferenciación de las especies pertenecientes a este género, se utilizó la prueba de movilidad en medio SIM (Anexo B) ya que según Pascual y Calderón et al, 1999: “el *C. botulinum* posee unos flagelos que le sirven para moverse”, siendo esta la única diferencia entre estas dos especies.

Respecto a la patogenicidad de estas especies de bacterias, se puede decir que el *Clostridium perfringens* causa según (Pascual y Calderón et al, 1999) “toxiinfección alimentaria y se debe a una enterotoxina del tipo A que se produce en el citoplasma y se libera con las esporas al romperse el esporangio”; mientras que el *Clostridium botulinum* causa según (Romero, 2007) “botulismo, este se da por la ingesta de alimentos enlatados que tengan las esporas de *C. botulinum*; es la toxina natural más potente que se conoce, atacando principalmente la unión mioneural donde inhibe la liberación de acetilcolina, causando la parálisis flácida”. Aunque estas dos especies fueron observados como bacilos Gram positivos esporulados, su potencial patógeno está todavía por determinar, ya que al igual que con los otros microorganismos descritos, no existen evidencias de cuadros graves de enfermedad en la Universidad.

Género *Listeria*

Según la tabla 17, el 15% del total de los morfotipos aislados corresponde a bacilos Gram positivos no esporulados, de los cuales el 13% fueron identificados dentro del género *Listeria*. De acuerdo con (Sánchez et al, 2009) estas bacterias vistas al microscopio “tienen forma regular, de vara corta y punta redondeada. Algunas veces pueden tener forma cocoide o estar en cadenas cortas”, lo cual concuerda con lo encontrado y consignado en las tablas 8 y 9.

En el primer muestreo se encontraron colonias identificadas como *Listeria*, en una mayor proporción en el sanitario de mujeres y en el mesón de la cafetería y una sola en una de las mesas de la cafetería y en el lavamanos del baño de mujeres después del aseo; para el segundo muestreo hubo dos veces una mayor proporción de *Listeria* identificadas y aisladas de lugares como el lavamanos y el sanitario del baño de hombres antes del aseo, la mesa de la cafetería, el lavamanos del baño de mujeres después del aseo; además del sanitario y del lavamanos del baño de mujeres en el edificio de artes. (Sánchez et al, 2009) expone que el género *Listeria* “está muy difundida en la naturaleza pudiendo adoptar un ciclo saprofítico en relación con el suelo. Se ha aislado en el suelo, aguas continentales, sedimentos marinos, material vegetal en descomposición y forrajes”, lo que permite inferir que además de aislarse de muchos sitios animados o inanimados pueden ser transportados en la piel.

Al analizar el factor aseo y su relación con los aislamientos de este microorganismo, se encontró que de las 16 muestras identificadas como género *Listeria*, la mitad se aisló antes de realizarse el aseo, 2 después de aseo y las otras 6 en mesas y mesones de la cafetería, comprobando el aseo realizado en la mayoría de estas áreas es eficaz, ya que elimina las bacterias patógenas para los seres humanos; para el caso de las bacterias encontradas en el lavamanos después del aseo, se debe a que al momento de trapear las señoras del aseo lavan los trapeadores sobre los lavamanos haciendo que se distribuyan todas las bacterias recogidas de los pisos, de las 6 encontradas en la cafetería pensamos que crecían allí porque a ninguna hora del día se observó que se le hiciera una desinfección con hipoclorito o con cualquier detergente.

Prueba Especie	Catalasa	Citrato	SIM				Crecimiento	Oxidasa
			H ₂ S	Mov. 37°	Indol	Mov. 25°		
Listeria	+	-	-	-	-	+	Anaerobio facultativo	-

Tabla 21. Características bioquímicas para la identificación del género *Listeria* (Sánchez et al, 2009)

Desde el punto de vista bioquímico se puede decir que las bacterias del género *Listeria* tienen la enzima catalasa. En cuanto a la prueba de citrato, el 15% de las bacterias Gram positivas no esporuladas no viraron el color del medio de verde a azul, porque según (Koneman, 2008) “no utilizan el carbono del citrato de sodio, sin extraer hidrógeno del fosfato de amonio contenido en el medio y sin liberar amonio”.

En la prueba de SIM a 37° C estas bacterias no presentaron movimiento, por lo que se realizó la misma prueba a 25° C dando un movimiento positivo en forma de sombrilla; de acuerdo con (Ruíz, 2006) “la *Listeria* es móvil a temperatura ambiente pero inmóvil a 37° C”. En cuanto al crecimiento en caldo tioglicolato se observó que estas bacterias se desarrollaron en todo el medio, lo que las hace anaerobias facultativas según el resultado en caldo tioglicolato (Anexo B), es decir, que pueden crecer tanto en presencia como en ausencia de oxígeno.

Los microorganismos pertenecientes a este género, pueden causar diversas patologías si llegan a colonizar a los seres humanos y entre esas la más conocida es la listeriosis que según (Baker, 2009) “*afecta a personas mayores, mujeres embarazadas y pacientes inmunocomprometidos presentando síntomas como fiebre, malestar general, cefalea, síntomas digestivos y dolor lumbar; haciendo que se confunda con la gripe*”. Según Sánchez (2009): “*Las enfermedades causadas por listeria son de incidencia baja pero el impacto en la salud pública se puede comparar con enfermedades como la salmonelosis. Hay 2 tipos de listeriosis que son la no invasiva y la invasiva. La no invasiva es causada por consumir alimentos contaminados con listeria y tiene síntomas como fiebre, diarrea, cefalea y mialgias. La invasiva puede causar enfermedades graves como infecciones en el embarazo, granulomatosis infantiséptica, cerebritis e infecciones focales*”.

Género *Neisseria*

De este género y durante el segundo muestreo se obtuvo un aislamiento, lo que hace que sólo un 1% de ellas esté presente en todos los muestreos; se encontró en el lavamanos del baño de las mujeres justo después del aseo, deduciendo que son resistentes a los desinfectantes. Las características observadas tanto de la morfología de colonia como de la morfología celular se describen en las tablas 9 y 11 y concuerdan con las expuestas por (Koneman, 2008) quien también afirma: “*Todas las especies de Neisseria están presentes en las superficies de las*

mucosas de animales de sangre caliente ya que crecen de manera óptima a temperaturas de 35 a 37° C y se desarrollan mejor en ambientes húmedos. En los humanos son habitantes normales de las vías respiratorias altas y no se consideran patógenos, aunque a veces se les puede aislar en procesos infecciosos”.

Por los anterior, no fue raro encontrarlas en los lavamanos, ya que si la persona deposita saliva frente a él puede propagar las bacterias y dejarlas en el lavamanos; además, la ciudad de Neiva tiene una temperatura promedio de 28°C, pero durante gran parte del día puede alcanzar temperaturas muy por encima de los 30° C, factor que contribuye a su desarrollo óptimo.

Prueba Género	Catalasa	SIM			TSI	Tioglicolato	Oxidasa
		H ₂ S	Mov.	Indol			
<i>Neisseria</i>	+	-	-	-	A/A	Aerobio facultativo	+

Tabla 22. Características para la identificación del género *Neisseria* (Koneman, 2008)

La identificación de este género *Neisseria* se realizó mediante la prueba de catalasa; en la prueba de SIM a 37°C no se observó movimiento flagelar y en el caldo tioglicolato la bacteria creció en todo el tubo, lo que nos indica que puede crecer tanto en presencia como en ausencia de oxígeno (aerobio facultativo). La confirmación de este género se realizó la prueba de oxidasa ya que la tira viró del color pardo a un azul oscuro fuerte que según (Koneman, 2008) cuando esto ocurre es porque “en presencia de citocromo oxidasa y de oxígeno atmosférico la p-fenilendiamina se oxida y forma azul de indofenol”.

Al ser cocos Gram negativos se pensaría que todos son patógenos estrictos pero según (Merino, sf) “algunas de las especies de este género son patógenos oportunistas y entre las enfermedades que puede causar están laringitis, gonorrea y meningitis”.

Género *Staphylococcus*

Como se aprecia en las gráficas 17 y 18 se encontró que el 52% de los géneros y especies identificados corresponden a cocos Gram positivos agrupados en racimos (estafilococos), esto se argumenta de acuerdo a lo dicho por Seija (sf)

quien también dice que “este género comprende unas 30 especies dentro de las cuales se destacan *S. aureus*, *S. saprophyticus* y *S. epidermidis*”, los cuales que aparecen en ambos muestreos efectuados. Este porcentaje alto se debe a que los estafilococos son bacterias poco exigentes desde el punto de vista nutricional, haciendo que puedan crecer en todas las superficies, sean animadas o no. Por esta razón se inicia el análisis de todas las cepas identificadas por los estafilococos ya que este es el género que tienen una mayor frecuencia de aparición en los muestreos efectuados; dentro de este género las especies que presentaron mayor aparición fueron *S. epidermidis* y *S. saprophyticus* y en menor porcentaje *S. aureus*.

Todos los estafilococos encontrados en ambos muestreos fueron positivos a la prueba de catalasa y de acuerdo con Seija (sf) “esta enzima descompone el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua y oxígeno para protegerse del efecto tóxico del peróxido, que es un producto final del metabolismo aerobio de los azúcares”. La prueba es positiva porque al agregar la gota de agua oxigenada a una muestra de la colonia, ésta inmediatamente desprendía burbujas de O_2 .

Staphylococcus epidermidis

En general el *S. epidermidis* se encontró en casi todos los lugares en los que se hicieron los dos muestreos, excepto en las mesas de la cafetería y en el baño de hombres después del aseo, esto para el primer muestro. En el segundo, no se aislaron en el lavamanos del baño de hombres del edificio de artes, en el lavamanos y en el sanitario de los baños de hombres del primer piso. En los lugares donde tuvo una mayor frecuencia de aparición para el primer muestreo fueron en el sanitario de los baños de mujeres y en los mesones de las cafeterías, mientras que en el segundo muestreo se encontraron en las mesas de la cafetería; según lo que afirma Seija (sf) “*S. epidermidis* hace parte de la flora normal de la piel” lo que hace pensar que es muy común encontrar este tipo de microorganismos en los fómites muestreados porque con todos ellos tenemos una relación directa, es decir, que todos estos sitios están expuestos al roce con el cuerpo, haciendo que estas bacterias pasen fácilmente de partes del cuerpo como las manos, los glúteos y las piernas.

De acuerdo con el factor aseo, se puede decir que aparecieron 4 veces más colonias de este microorganismo antes del aseo en comparación a los que crecieron justo después del aseo; esto se debe a la acción de los desinfectantes usados para limpiar todos los sitios, ya que este tipo de bacterias no cuenta con

una espora que las haga más resistentes a la desecación y a la acción de los desinfectantes. En cambio en el segundo muestreo, se encontró que la frecuencia de aparición en los lugares muestreados después del aseo fue dos veces mayor al muestreo realizado antes del aseo. Si se es específico y se ve lugar por lugar, se puede decir que para el primer muestreo hay una mayor frecuencia de aparición de este microorganismo en el baño de mujeres (incluye sanitario y lavamanos) con respecto al baño de hombres (incluido sanitarios y orinales) y a las mesas y mesones de cafetería. Para el segundo muestreo la mayor aparición se da en los baños de mujeres con respecto al baño de hombres y las mesas de la cafetería. Si se comparan las facultades muestreadas, se puede decir que en la Facultad de Educación hay una mayor aparición de este organismo respecto al edificio de artes, debido a que hay un mayor flujo de personas en la Facultad de Educación.

Especie	Catalasa	Coagulasa	Manitol	Novobiocina
<i>S. aureus</i>	+	+	+	Sensible
<i>S. saprophyticus</i>	+	-	+	Resistente
<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	Sensible

Tabla 23. Características bioquímicas para la identificación del género *Staphylococcus*

Teniendo en cuenta el cuadro anterior, *S. epidermidis* se pudo diferenciar de las otras especies en la no fermentación de manitol que se da en la mayoría de las especies de este género ya que las otras especies como *aureus* y *saprophyticus* si logran fermentarlo, según García et al (2003).

El *S. epidermidis* como lo enuncia el autor, está relacionado con enfermedades como infecciones urinarias intrahospitalarias, osteomielitis, endocarditis de válvula nativa, bacteriemia en pacientes inmunosuprimidos, endoftalmitis después de cirugía ocular, infecciones de catéteres endovenosos, fístulas para hemodiálisis, catéteres de diálisis peritoneal, marcapasos, articulaciones protésicas, injertos vasculares, válvulas cardiacas protésicas e implantes de mama. Esto demuestra que la bacteria está asociada a pacientes con predisposición a infectarse con ella y en esta investigación el tipo de población usuaria de estos fómites es distinta ya que son estudiantes de la Universidad.

Staphylococcus saprophyticus

Para este microorganismo, se encontró que en general apareció cuatro veces más en el primer muestreo en comparación con el segundo, lo cual se debió a que los muestreos se hicieron en épocas diferentes. En el primer muestreo los lugares

donde más se encontró este microorganismo fue en los baños de las mujeres y en las mesas de la cafetería, mientras que en el segundo muestreo fue en el baño de hombres, aunque como se observa en la gráfica 16 son muy escasas las colonias de *S. saprophyticus* porque en la mayoría de los sitios muestreados no hubo presencia de ella. Según Seija (sf) “*S. saprophyticus* forma parte de la flora normal en mucosa del aparato genitourinario del ser humano” por lo que fue encontrarlas en lugares como los baños donde se tiene un contacto directo con esta parte del cuerpo al momento de miccionar o de defecar.

Si se compara el factor aseo de nuevo, se puede decir que tanto en el primero como en el segundo muestreo se encontró una mayor cantidad de colonias antes del aseo en comparación a las resultantes después de hacer el aseo. Esto se debe al efecto que tienen los desinfectantes sobre este tipo de bacterias como se mencionó anteriormente con los resultados de *S. epidermidis*.

Al observar la tabla 10 y 11, se puede notar que todas las colonias de *S. saprophyticus* no coagulan el plasma humano y por esto se diferencian fácilmente del *S. aureus*.

El *S. saprophyticus* puede ser causante de enfermedades graves para el ser humano sino se tiene un cuidado especial al momento de interactuar con ella, porque como lo menciona (Estrada et al), “es considerado como el agente causal de la infección del tracto urinario”. Para Seija (sf), “esta especie causa hasta el 20% de las infecciones urinarias extrahospitalarias en mujeres jóvenes, también se le relaciona con afecciones del tracto urinario bajo sin alteraciones estructurales y no presenta resistencia a antibióticos”.

Staphylococcus aureus

Este microorganismo sólo se aisló en el orinal del baño de los hombres del edificio de Artes según esto se puede decir que tiene una muy baja frecuencia de aparición con respecto a las otras dos especies que también se lograron aislar en esta investigación, aunque este edificio se escogió sólo como control. Seija (sf) expone que “el *S. aureus* habita la nasofaringe y zonas húmedas como pliegues inguinales y axilas, se estima que del total de la población un 30% puede ser portador permanente, un 50% portador intermitente y un 20% no sufre colonización”; de acuerdo con esto debería haber aparecido más de una colonia de este microorganismo; de acuerdo con (Freeman-Cook et al, 2006) “si las condiciones de crecimiento como la temperatura o los nutrientes no son favorables, *S. aureus* puede existir durante años en un estado latente, es decir, estar inactivo y al acecho de un buen momento para comenzar cada vez mayor”,

dándonos a entender que los nutrientes sólo alcanzaban una colonia como la aislada.

En este caso no se puede comparar antes y después de aseo ya que este microorganismo sólo apareció antes de hacer el aseo y en un sitio de control. Si se observa la gráfica 18, cuenta con el 1% de aparición pero no se puede descuidar ya que al existir un reporte de este microorganismo se deben tener en cuenta maniobras para erradicar este patógeno porque como lo sustenta (Seija, sf) puede causar enfermedades clasificadas en grupos como:

Invasión directa: (Superficial) Piodermas, incluyendo impétigo y paroniquia, infecciones de piel y tejidos blandos, forúnculos, celulitis, linfangitis, linfadenitis, etc. (Profunda) Artritis séptica, Osteomielitis, Piomiositis.

Diseminación por vía sanguínea: Bacteriemia con o sin shock o falla multiorgánica, formación de abscesos metastásicos (cerebro, pulmón, hígado, bazo, retroperitoneo, riñón, tracto genital, etc.)

Enfermedades mediadas por toxinas: Síndrome de piel escaldada, intoxicación alimentaria y Síndrome del shock tóxico.

Género *Klebsiella*

Como se aprecia en la tabla 17, del 3% que comprenden las bacterias Gram negativas encontradas en la investigación, el género *Klebsiella* sólo presenta un porcentaje de aparición del 1% con relación a todos los demás géneros. Este microorganismo se encontró sólo en el segundo muestreo y el lugar fue el lavamanos del baño del edificio de artes; no es raro este aislamiento, ya que de acuerdo con (Gillespie et al, 2006) “los gérmenes de este grupo están muy extendidos en la naturaleza. Se les ha aislado del suelo, aire, polvo y agua”, así que las mismas personas pueden transportarlas en la piel y dejarlas allí pudiendo sobrevivir unos días; además, en el momento en el que se tomó la muestra, el lavamanos aún no se encontraba limpio lo que favoreció el desarrollo de esta bacteria que es patógena estricta. Como se puede ver en la tabla 9, la morfología celular estudiada al microscopio es la misma argumentada por (Jimenez de Anta, 1978) quien dice que “Las bacterias de este género se presentan en forma de bacilos Gram negativos cortos pero se pueden encontrar formas largas, siendo este polimorfismo uno de los elementos para el diagnóstico morfológico”.

La tabla 12 muestra el crecimiento del microorganismo en diferentes medios de cultivo: en agar MacConkey se desarrollaron colonias rosadas húmedas que de acuerdo con (Koneman, 2008) “son los fermentadores típicos de la lactosa que tienen una zona de bilis alrededor de las colonias rosadas”. Como estas colonias podían ser también de *E. coli*, las bacterias se sembraron en el medio de cultivo eosina-azul de metileno (EMB) que confirma la presencia de una o de otra, observándose colonias rosadas con un halo verdoso que según (Koneman, 2008) “son típicas de fermentadores débiles como *Klebsiella* que producen colonias violáceas a las 24 horas de cultivo”. Para diferenciarla de *Salmonella* o *Shigella* se pusieron a crecer en un agar selectivo para este tipo de bacterias, obteniéndose colonias rojas o vivas naranjas que de acuerdo con (Rodríguez et al, 2005) “las bacterias fermentadoras de lactosa que logren crecer en este medio forman colonias rojizas o anaranjadas y generalmente mucoides”. En cuanto a las pruebas bioquímicas, la de catalasa fue positiva y, a diferencia de otras bacterias de las mismas coliformes, si “usan el carbono del citrato de sodio, liberando amonio para poder hacer virar el medio de color verde a un color azul prusia así como lo argumenta” (Koneman, 2008), es decir, son citrato positivas. Estas bacterias fermentaron el manitol virando el color del medio de rojo a amarillo, este cambio de color según (Koneman, 2008) se da porque “las colonias producen ácido a partir del manitol” esto nos indicó que la prueba fue positiva. Al realizar la prueba de SIM no se produjo cambio en el medio, lo que de acuerdo con (Koneman, 2008) “no tiene la enzima triptofanasa que es la encargada de escindir el triptófano y así producir indol, ácido pirúvico y amoníaco”. En la prueba de TSI, se observó la producción de gas que según (Koneman, 2008) “ocurre a expensas de la fermentación de la lactosa y de la sacarosa, presentando una reacción ácida-ácida” que como se ve en la tabla 11 corresponde al resultado A/A. Al cultivarse en el caldo tioglicolato se observó un crecimiento en todo el tubo lo cual indica que es anaerobio facultativo. En el medio MIO no se observó movilidad, así como en el SIM, no se produjo indol y no descarboxila la ornitina que de acuerdo con (Koneman, 2008) quiere decir que “no eliminan moléculas de CO₂ de un aminoácido para formar aminas de reacción alcalina”.

Todas las pruebas anteriormente mencionadas y explicadas se compararon con la siguiente tabla:

Prueba Especie	Catalasa	Citrato	Manitol	SIM			TSI	Tioglicolato	Oxidasa
				H ₂ S	Mov.	Indol			

Klebsiella	+	+	+	-	-	-	A/A con presen cia de gas	Anaerobio facultativo	-
------------	---	---	---	---	---	---	---------------------------------------	--------------------------	---

Tabla 24. Pruebas bioquímicas para la identificación del género *Klebsiella* (Koneman, 2008)

De la *Klebsiella* se dice que tiene un gran potencial patógeno debido a sus genes que pueden producir abscesos o problemas en los pulmones; Jiménez de Anta, (1978) afirma que “En la mayor parte de casos, probablemente se trate de invasores secundarios como en las afecciones pulmonares por estos gérmenes en pacientes con bronquiectasias y otras enfermedades respiratorias crónicas. También se ha asociado al género *Klebsiella* con lesiones supurativas de diversas partes del organismo: abscesos hepáticos, meningitis, otitis, sinusitis, osteomielitis, etc. Igualmente, pueden producir septicemias, particularmente frecuentes en recién nacidos y enfermos crónicos graves. A semejanza de otras enterobacterias del grupo de los coliformes, pueden producir infecciones de las vías urinarias del hombre”.

Género *Pseudomonas*

Como se aprecia en la tabla 17, del 3% que comprenden las bacterias Gram negativas encontradas en la investigación, el género *Pseudomonas* solo presenta un porcentaje de aparición del 1% con relación a todos los demás géneros. Esta bacteria se encontró en el lavamanos de los baños de hombres, justo después del aseo, lo que indica de cierta manera que son resistentes a los desinfectantes y como dice (Arias et al, 2002) “su hábitat fundamental es el suelo pero también se han encontrado en agua, aire y seres vivos”, por lo que no es raro encontrarlas en este fómite ya que las personas pueden transportarlos a estos lugares.

Los cultivos en agar nutritivo permitieron observar colonias que viraron el medio a verde, propio de estos bacilos Gram negativos muy cortos (tabla 9), resultado que concuerda con los expuestos por (Koneman, 2008). El microorganismo se cultivó en otros medios (tabla 12) como el agar MacConkey observándose colonias transparentes que viraron el medio a un color claro; de acuerdo con (Koneman, 2008) “algunos no fermentadores producen colonias incoloras o transparentes”. Al cultivarse en agar sangre se desarrollaron colonias lisas oscuras que corresponden a las reportadas por (Koneman, 2008). Finalmente, en agar Muller Hinton las colonias desarrolladas (de color verde claro) viraron el medio a verde

oscuro, lo cual concuerda con lo expuesto por (Koneman, 2008) “estas bacterias viran el medio a color verde debido a la secreción de pioverdina”.

En la prueba de catalasa, como se ve en la tabla 11, el resultado fue positivo y, a diferencia de otras bacterias de las mismas no fermentadoras, sí son citrato positivas; no fermentaron el manitol y en la prueba de SIM se observó una pequeña línea que sobresale por fuera de la de siembra, lo que significa que hay movimiento flagelar; de resto no se presentó algún cambio los que nos llevó a pensar que la bacteria no produce H₂S, ni produce indol porque no posee la enzima triptofanasa. Cuando se realizó la prueba de TSI, no se presentó viraje del medio, lo que indica que es K/K, porque según (Koneman, 2008) “no fermenta la lactosa ni la sacarosa”. Al cultivarse en el caldo tioglicolato se observó un crecimiento en todo el tubo lo cual nos indica que es anaerobio facultativo. En el medio de cultivo MIO la movilidad fue positiva y la producción de indol fue negativa y la descarboxilación de la ornitina fue positiva; de acuerdo con (Koneman, 2008) quiere decir que “elimina moléculas de CO₂ de un aminoácido para formar aminas de reacción alcalina”.

Según (Arias et al, 2002) “las bacterias pertenecientes a este género pueden causar infecciones nosocomiales o intrahospitalarias atacando a pacientes con las defensas disminuidas o en pacientes quemados. Común en fómites contaminados como respiradores, catéteres, termómetros, sondas, etc”.

Género *Pasteurella*

De acuerdo con la tabla 17, del 3% que comprende a las bacterias Gram negativas encontradas en la investigación, el género *Pasteurella* sólo tiene un porcentaje de aparición del 1% con relación a todos los demás géneros. Esta bacteria se aisló en el lavamanos de los baños de hombres justo después del aseo, lo que indica de cierta manera que son resistentes a los desinfectantes y como lo expone (Forbes, 2009) “hacen parte de la flora normal de los animales y se transmite a los humanos durante el contacto estrecho con ellos”. En consecuencia con lo anterior se puede decir que no es raro encontrar bacterias de este tipo en sitios como los muestreados ya que en la Universidad existen animales comunes como perros y los estudiantes tienen una relación muy cercana con ellos o los estudiantes que conviven con mascotas en su casa constituyen un medio de transporte para el microorganismo.

Prueba Especie	Catalasa	Manitol	SIM			Tioglicolato	MIO		
			H ₂ S	Mov.	Indol		Mov	Indol	Ornitina

Pasteurella	+	V	-	-	+	Anaerobio facultativo	-	+	+
-------------	---	---	---	---	---	-----------------------	---	---	---

Tabla 25. Pruebas bioquímicas para la identificación del género *Pasteurella* (Koneman, 2008)

*V = Variable

De acuerdo con los datos encontrados en (Koneman, 2008) y comparándolos con lo encontrado en los resultados, se identificó el género *Pasteurella* porque tiene la enzima catalasa, algunas de sus especies pueden fermentar el manitol y otras no y por ello en la tabla 23 aparece como variable; como son indol positivo quiere decir que posee la enzima triptofanasa y crecieron en todo el tubo con caldo tioglicolato, indicando que son anaerobias facultativas. En cuanto al medio MIO, al igual que las *Pseudomonas*, pueden descarboxilar la ornitina.

Según (Forbes, 2009) “las bacterias del género *Pasteurella* se consideran como patógenos oportunistas que requieren la ruptura de barreras anatómicas como sucede con las heridas; puede causar infecciones del aparato respiratorio y otros sitios corporales”.

Género *Micrococcus*

Al observar la tabla 17, del 53% de los cocos grampositivos encontrados en toda la investigación, sólo el 1% correspondió al género *Micrococcus* que de acuerdo con (Engelkirk, 2008) “tiene una forma redondeada (cocos), gram positivo y su disposición casi siempre es de pares y tétradas”; esto corresponde con lo encontrado en el laboratorio y consignado en la tabla 11. Esta bacteria se aisló del lavamanos de hombres después de realizar el aseo (LBH1DA) y de acuerdo con (Engelkirk, 2008) “son parte de la flora normal de la piel, las mucosas y la orofaringe”, esto indica que el haberlas encontrado en el lavamanos es común ya que al estar en la piel se pueden transportar fácilmente hacia este lugar y, probablemente, ser resistentes a los desinfectantes.

Prueba		
Especie	Catalasa	Oxidasa

<i>Micrococcus</i>	+	+
--------------------	---	---

Tabla 26. Pruebas bioquímicas para la identificación del género *Micrococcus* (Engelkirk, 2008)

Al comparar los resultados de la tabla 12 con los de la tabla 24 se observa que las bacterias del género *Micrococcus* tienen en común con las del género *Staphylococcus* la producción de la enzima catalasa, pero las diferencia su disposición al momento de verlas al microscopio, además que las bacterias del género *Micrococcus* “son capaces de producir azul de indofenol en presencia de citocromo oxidasa y de oxígeno atmosférico, oxidando la p-fenilendiamina” (Koneman, 2008).

Extracción de ADN

Las muestras MCaf1 M2 (Mesa de la cafetería) y 2SMDA M1 (Sanitario de Mujeres Después del Aseo) fueron seleccionadas por representar cada una a un grupo diferente de acuerdo con la tinción de Gram: la primera de ellas es Gram positiva y la segunda Gram negativa, teniendo en cuenta que los métodos comerciales plantean protocolos diferentes para cada grupo mientras que los métodos manuales no.

Los métodos de extracción modernos se centran en hacer cada vez más eficiente dicho proceso mediante el uso de kits y extractores automatizados tratando de evitar al máximo la intervención humana, con el objetivo de mejorar la precisión, obtener resultados reproducibles y reducir el tiempo de extracción (Velázquez, L. et al. 2014).

Cuantificación de ADN

En este caso, los métodos tradicionales, fueron los más eficientes además de ser protocolos más económicos, comparados con los desarrollados por el kit, (Tabla 16 y Gráfica 19); el protocolo más eficaz en cuanto a cantidad de ADN fue el método de Pospiech y Neumann, para las dos muestras analizadas y luego se ubicó el método de Martin Platero; los valores más bajos fueron los obtenidos

mediante los tres kits comerciales, los cuales emplean una columna la cual retiene el ADN por lo que resulta necesario efectuar por lo menos tres lavados para recuperar el material genético; sin embargo, con estos métodos la cantidad de ADN extraído fue muy inferior a los obtenidos con los métodos tradicionales o manuales.

1.6.7.1 Calidad de ADN extraído

Una solución pura de ADN tiene una relación 260/280 entre 1,8 y 2,0. (Puerta, C. y C. Ureña, 2005); valores menores a 1.6 evidencian una contaminación por compuestos aromáticos, mientras que un valor mayor a 2.1 evidencia la presencia de residuos de ARN (Ruiz, G., y Wachter, R. 2003). La relación de absorbancia 260/230 se encuentra en un valor óptimo de 2.0 – 2.2; por fuera de este rango se evidencia contaminación por residuos proteicos (Sampedro A. et. Al. 1995).

De acuerdo con lo anterior, podemos decir que los mejores rangos de absorbancia 260/280 obtenidos se trabajaron por medio de los kits comerciales, especialmente con el kit de Invitrogen; los valores de la absorbancias 260/230 muestran excesiva precipitación probablemente con alcohol, debido a una exposición al aire libre de 20 minutos, tiempo que no resultó suficiente para que el alcohol se evaporara por completo (Gráfica 20).

1.6.7.1 Integridad del ADN extraído

La integridad del ADN fue evaluada mediante electroforesis en gel de agarosa indicando como resultado óptimo aquella única banda definida que se revela en el gel, (Figura 10), como se observa en las muestras de los protocolos tradicionales o manuales.

1.7 CRONOGRAMA

ACTIVIDADES	MESES											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Elaboración Marco Teórico												
Elaboración y validación												
Toma de muestras												
Incubación material recolectado												
Análisis en laboratorio												
Informe Parcial												
Informe Final												
Divulgación y concientización												

1.8. CONCLUSIONES

El género *Staphylococcus* y la especie *epidermidis* representaron las bacterias con la mayor frecuencia de aparición durante todos los muestreos. Las bacterias de los géneros *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Listeria*, *Clostridium* y *Pasteurella* se aislaron con poca frecuencia; sin embargo, son conocidos como patógenos estrictos que pueden vivir en todos los sitios y por mucho tiempo pueden llegar a ocasionar problemas de salud en la población estudiantil sino se controlan de manera eficaz. Las maniobras de aseo, cumplen con su objetivo de desinfección en sanitarios, mientras que este mismo efecto no se presentó en los lavamanos, siendo estos últimos los fómites que presentaron el mayor número de colonias bacterianas durante los dos muestreos realizados, incluso después de las maniobras de aseo. La evaluación de los diferentes kit para la extracción de ADN bacteriano permitió obtener mejores resultados en cuanto a cantidad de material genético extraído con los protocolos tradicionales (manuales) los cuales permiten una reducción de costo y obtención de ADN en alta concentración. Los kit comerciales son excelentes herramientas para obtener ADN puro; sin embargo, poseen desventajas como la retención del ADN en las columnas obteniéndose una cantidad mínima, además de ser un método costoso. Las técnicas de recolección, transporte y almacenamiento de las muestras son pertinentes para este tipo de investigación. La comunidad educativa se mostró asertiva frente a la divulgación de los resultados, mostrando gran interés y sobre todo impresión frente a los mismos. La cartilla representa un material de consulta excelente para estudiantes de la carrera especialmente para la planeación de sus clases.

1.9. RECOMENDACIONES

A todo el público en general hacer uso más frecuente de técnicas de asepsia como el lavado de manos con jabón y alcohol, cada vez que se haga uso de cualquier sitio público para evitar la transmisión de posibles enfermedades. Usar técnicas de biología molecular para la confirmación de las especies bacterianas identificadas mediante las técnicas clásicas de microbiología ya que es muy importante la secuenciación del genoma para la identificación de genes de patogenicidad y de resistencia a los antimicrobianos. A las empleadas del aseo, realizar un proceso de desinfección más riguroso en todas las superficies estudiadas, con mayor atención en el lavamanos, ya que es allí donde permanecen bacterias después del aseo. A las entidades de salud pública, seguir realizando este tipo de estudios en la región y por supuesto en el país ya que es muy poco lo que se ha estudiado sobre el tema de fómites y faltan muchos sitios por evaluar. A las entidades públicas regionales y nacionales, apoyar más estudios de este tipo, en diferentes condiciones y con diferentes grupos poblacionales para encontrar precursores de enfermedades tan comunes como las gástricas ya que en este estudio se encontraron bacterias como el *Bacillus Cereus* y géneros como *Klebsiella* y *Pseudomonas* que se relacionan con ellas.

1.10 BIBLIOGRAFÍA

Anónimo. (2012). Baños contaminados con bacterias resistentes. Agosto 15, 2016, de Revista Hospimedica en Español Sitio web: <http://www.adox.com.ar/biblioteca/12-biblioteca/articulos-de-interes/noticias/33-banos-contaminados-con-bacterias-resistentes.html>

ARIAS, J., ALLER M., ARIAS J., y LORENTE L. Generalidades médico-quirúrgicas. España: Editorial Tébar. 2002. p 279.

AUSINA, V. y MORENO, S. Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. España: Editorial Médica Panamericana. 2006. p 451 y 452.

BAILÓN. Lucía, CRUZ. Roberto, CERVANTES. Armando, Atlas de pruebas bioquímicas. México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2003, p. 1-175.

BAKER, C. Red Book Atlas de enfermedades infecciosas en pediatría. España: Editorial Médica Panamericana. 2009. p 192.

CUERVO. RAÚL, Manual de protocolos de microbiología general. Cali: Universidad de San Buenaventura, 2010, p. 28.

ENGELKIRK, P., & DUBEN-ENGELKIRK, J. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Essentials of Diagnostic Microbiology. USA: Lippincott Williams & Wilkins. 2008. p 216.

ESPINOSA. José, CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE CRECIMIENTO DE BACILLUS SUBTILIS BAJO CONDICIONES ANAEROBIAS, Tesis Doctoral, Universidad Nacional Autónoma de Mexico, Mexico D.F, 2005.

ESTRADA. Santiago, RESTREPO. Marcos, JARAMILLO. Edilma, MONTOYA. Cecilia, Staphylococcus saprophyticus como agente etiológico de la infección del tracto urinario, Revista Acta Médica Colombiana Vol. 15 N° 5, Bogotá, Colombia, 1990, pgs. 292-297.

FERLOTTI C. Manual de Técnicas Básicas de Cocina 2. España: Editorial Creative tw. 2015. p 6

FLORES. Gilberto, BATES. Scott, KNIGHTS. Dan, LAUBER. Christian, STOMBAUGH. Jesse, KNIGHT. Rob, FIERER. Noah, Microbial Biogeography of

Public Restroom Surfaces, Revista PLoS ONE 6(11): e28132. doi:10.1371/journal.pone.0028132, 2011, pgs. 1-7.

FORBES, B. Diagnostico Microbiológico. USA: Editorial Médica Panamericana. 2009. p 393

FREEMAN-COOK, L., FREEMAN-COOK, K., ALCAMO, E., & HEYMANN, D. (2006). Staphylococcus Aureus Infections. USA: Infobase Publishing. p 28.

Fundación Vasca para la Seguridad Alimentaria, Bacillus cereus, 2013. Citado en: http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento96/8.Bacillus.pdf

GARCÍA A. Y M. ZAMUDIO. Manual microbiología médica. Universidad Nacional Autónoma de México, 1998, 327 pp.

GARCÍA, P., FERNÁNDEZ DEL BARRIO, M., & PAREDES, F. Microbiología clínica aplicada. , España: Ediciones Díaz de santos Madrid, 1997. p 9.

GARCIA. Coralith, PARDO. Juan, SEAS. Carlos, Bacteremia por *Staphylococcus epidermidis* y absceso de partes blandas en un paciente postoperado: Reporte de un caso, Revista Med Hered, Perú, 2003, pgs. 221-223.

GILLESPIE, S., & HAWKEY, P. (2006). Principles and Practice of Clinical Bacteriology. Inglaterra: John Wiley and Sons Ltd. p 380.

GONZÁLEZ, S., LOZADA, M., & SANTIAGO, I. (2014). Análisis bacteriológico de superficies inertes. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología, 52, 3.

INGRAHAM. John, INGRAHAM. Catherine, Introducción a la microbiología, primera edición, editorial Reverté, Barcelona, España, 1998, pgs. 474.

KONEMAN E., & ALLEN S. (2008). Diagnostico Microbiologico. USA: Editorial Médica Panamericana. P 542.

Laboratorios Britania S.A. 2010, <http://www.britanialab.com/>

MACEDO. M, VOLA. M, Principales grupos de Gram positivos aerobios. Citado en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/grampositivosaerobios.pdf> pgs. 339-353

MARTIN-PLATERO A. M., VALDIVIA E., MAQUEDA M. y MARTINEZ-BUENO M. Fast, convenient, and economical method for isolating genomic DNA from lactic acid bacteria using a modification of the protein “salting-out” procedure, *Anal. Biochem.* 2007. 366:102-104.

PASCUAL, M., & CALDERÓN Y PASCUAL, V. (1999). *Microbiología Alimentaria: Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas*. Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos. P 105.

POSPIECH A. y NEUMANN B. A versatile quick-prep of genomic DNA from Gram-positive bacteria. *Trends Genet.* 1995. 11:217.

PUERTA, C. y C. UREÑA. *Prácticas de biología molecular*, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, 2005, 100 pgs.

RIOS A. Evaluación del nivel de contaminación de superficies y la eficacia de productos desinfectantes a corto y largo plazo. Tesis doctoral. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona. 2013. Pgs 16- 19.

ROCHA. R, LOZANO. P, MARTÍNEZ. I, *Mecanismos de patogenicidad e interacción parásito-hospedero*, primera edición, editorial Universidad Autónoma de Puebla, México D.F. México, 2004, pgs. 309.

RODRÍGUEZ E., GAMBOA M., HERNÁNDEZ F., y GARCÍA J. *Bacteriología General: Principios Y Prácticas de Laboratorio*. Costa Rica: Editorial Universidad de Costa Rica. 2005. p 134.

RODRÍGUEZ N. (2009). *Monitoreo microbiológico de aire, superficies y manos del personal asistencial en entidades de salud*. Departamento del meta. 2007. Universidad del Rosario y Universidad CES. p 76.

ROJAS C. Evaluación de cuatro desinfectantes sobre *Listeria monocytogenes* aislada de productos cárnicos crudos de una planta de procesamiento en Bogotá. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana. 2007.

ROMERO, R. *Microbiología y parasitología humana*. Argentina: Médica Panamericana, 2007. p 951

RUIZ, G., Y WACHER, R. Métodos para el estudio de comunidades microbianas en alimentos fermentados. Rev. Latinoamer. Microbiol, 2003, 45(1-2), 30-40.

SAMPEDRO A., DE LOS TOYOS R., y MARTÍNEZ A. Técnicas de fluorescencia en microscopía y citometría. Universidad de Oviedo, España, 1995, 253 pgs.

SANCHEZ, J., SERRANO S., MARFÌL R., y JODRAL M. Patógenos emergentes en la línea de sacrificio de porcino. España: Ediciones de Santos. 2009. pp 39-53.

SEIJA. Verónica, Cocos Gram positivos: aspectos prácticos. Citado en <http://www.higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2019.pdf>

TROYA J. Evaluación de la efectividad de los desinfectantes Divosan forte y MH en la desinfección de equipos y áreas de trabajo en una empresa procesadora de helados. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana. 2007.

VELÁZQUEZ, L., MARTÍNEZ, M., y ROMERO, A. Extracción y purificación de ADN. Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos, 2014.

ZAMBRANO, M., RODRÍGUEZ, H., URDANETA, L., GONZÁLEZ, A., & NIEVES, B. (2007). *Monitoreo bacteriológico de áreas clínicas odontológicas: estudio preliminar de un quirófano*. Acta Odontológica Venezolana, 45, 5. 2016, Agosto 15, De Scielo Base de datos.

[1] Resolución 2827 – Agosto de 2006 – Ministerio de la Protección Social - Manual de bioseguridad para establecimientos que desarrollen actividades cosméticas o con fines de embellecimiento facial, capilar, corporal y ornamental).

[2] Resolución 2117 - Junio de 2010: Por la cual se establecen los requisitos para la apertura y funcionamiento de los establecimientos que ofrecen servicio de estética ornamental tales como, barberías, peluquerías, escuelas de formación de estilistas y manicuristas, salas de belleza y afines y se dictan otras disposiciones.

ANEXOS

Anexo A

Tinción de Gram

Este procedimiento se realizó siguiendo el protocolo descrito por Cuervo R. (2010):

- Preparar un extendido fino de una colonia bacteriana y dejarlo secar al aire.
- Fijar el material al portaobjeto pasando el portaobjeto 3 ó 4 veces sobre la llama del mechero.
- Cubrir la superficie con solución cristal-violeta durante 1 minuto.
- Lavar.
- Cubrir el preparado con solución de yodo (Lugol de Gram) durante un minuto.
- Lavar.
- Bañar la superficie con el decolorante (alcohol cetona), hasta no arrastrar más colorante violeta (10 segundos más o menos).
- Lavar
- Cubrir con safranina o el contra-colorante a utilizar durante un minuto.
- Lavar.
- Examinar el preparado al microscopio, las bacterias Gram positivas se observan de color violeta y las Gram negativas de color rojo o rosadas.

Anexo B

Pruebas bioquímicas

Prueba	Fundamento	Indicador resultado	
		Positivo	Negativo
Citrato de Simmons (1)	Determina si un microorganismo utiliza citrato como única fuente de carbono para su metabolismo y crecimiento, provocando alcalinidad.	Crecimiento aunque no exista cambio de color. Crecimiento y el medio de color azul intenso en pico de flauta.	No hay crecimiento, medio de color verde.
Sulfuro-indol-motilidad (1)	Determina si un organismo es móvil o inmóvil, si es capaz de liberar ácido sulfhídrico por acción enzimática de los aminoácidos que contienen azufre produciendo una	Ácido sulfúrico	
		Ennegrecimiento del medio	Sin ennegrecimiento
		Indol	
		Anillo rojo en la	Color naranja en

	reacción visible de color negro y por último la capacidad de desdoblar el indol de la molécula triptófano.	superficie del medio.	la superficie del medio. Indica desarrollo de escatol, un compuesto metilado que puede ser el precursor de la formación de indol.
		Motilidad	
		Los organismos móviles migran de la línea de siembra y se difunden en el medio provocando turbiedad.	Crecimiento bacteriano acentuado siguiendo la línea de siembra.
Catalasa (2)	La enzima catalasa descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno.	El desprendimiento de burbujas se considera una prueba positiva	No se observa reacción
Coagulasa (2)	La Coagulasa actúa directamente sobre el fibrinógeno provocando la formación de coágulos o grumos cuando se mezcla una suspensión bacteriana con plasma citratado.	Formación de coagulo.	No existe formación de coagulo.
Oxidasa (3)	Prueba utilizada para la detección de la enzima citocromo-c-oxidasa	Observación de color violeta en la tira.	Tira sin cambio de color.
Ureasa (1)	Determina la capacidad de un organismo de desdoblar la urea formando dos moléculas de amoniacó por la acción de la enzima ureasa produciendo un cambio de color rojo en el medio.	Rojo rosado intenso en el pico de flauta	Amarillo

Prueba	Fundamento	Interpretación
Triple azúcar hierro (1)	Determina la capacidad de un organismo de atacar un hidrato de carbono específico incorporado en un medio de crecimiento básico, con producción o no de gases, junto con la determinación de posible ácido sulfhídrico.	Rojo en pico de flauta: alcalino; degradación aeróbica de glucosa. Amarillo en capa profunda: ácido; degradación anaeróbica de la glucosa. Amarillo en pico: ácido Amarillo en capa profunda: ácido

		<p>Rojo en pico de flauta: alcalino</p> <p>Sin cambio de color en capa profunda: alcalina.</p> <p>Producción de H₂S: precipitado negro</p> <p>Producción de gases: Producción de burbujas, descomposición del medio, ligera muesca del medio sobre el costado del tubo o desplazamiento del medio del fondo, dejando un espacio libre.</p>
<p>Manitol salado(3)</p>	<p>Medio de cultivo selectivo y diferencial, utilizado para el aislamiento y diferenciación de estafilococos.</p>	<p>Medio altamente selectivo debido a su alta concentración salina. Los estafilococos Coagulasa positiva hidrolizan el manitol acidificando el medio; las colonias aparecen rodeadas de una zona amarilla brillante. Los estafilococos Coagulasa negativos, presentan colonias rodeadas de una zona roja o púrpura.</p> <p>Las bacterias que crecen en un medio con alta concentración de sal y fermentan el manitol, producen ácidos, con lo que se modifica el pH del medio y vira el indicador de pH del color rojo al amarillo.</p> <p>Los estafilococos crecen en altas concentraciones de sal, y pueden o no fermentar el manitol.</p> <p>Los estafilococos Coagulasa positiva fermentan el manitol y se visualizan como colonias amarillas rodeadas de una zona del mismo color. Los estafilococos que no fermentan el manitol, se visualizan como colonias rojas, rodeadas de una zona del mismo color o púrpura.</p>

Caldo tioglicolato (3)	Favorece el desarrollo de una gran variedad de microorganismos aerobios y anaerobios, permite diferenciar los requerimientos de oxígeno.	<p>Aerobios: se observa crecimiento en la parte superior del medio.</p> <p>Anaerobios: se observa crecimiento en la parte inferior del medio.</p> <p>Anaerobios facultativos: se observa turbiedad en todo el medio.</p>
Agar McConkey (3)	Medio utilizado para el aislamiento de bacilos Gram negativos. Permite diferenciar bacterias que utilizan o no la lactosa.	<p>En el medio de cultivo, las peptonas, aportan los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano, la lactosa es el hidrato de carbono fermentable, y la mezcla de sales biliares y el cristal violeta son los agentes selectivos que inhiben el desarrollo de gran parte de la flora Gram positiva.</p> <p>Por fermentación de la lactosa, disminuye el pH alrededor de la colonia. Esto produce un viraje del color del indicador de pH (rojo neutro), la absorción en las colonias, y la precipitación de las sales biliares.</p> <p>Los microorganismos no fermentadores de lactosa producen colonias incoloras.</p>
Agar eosina azul de metileno EMB (3)	Este medio es utilizado para el aislamiento selectivo de bacilos Gram negativo. Permite el desarrollo de todas las especies de la familia Enterobacteriaceae.	<p>La diferenciación entre organismos capaces de utilizar la lactosa y/o sacarosa, y aquellos que son incapaces de hacerlo, está dada por los indicadores eosina y azul de metileno; éstos ejercen un efecto inhibitorio sobre muchas bacterias Gram positivas. Muchas cepas de E. coli y Citrobacter spp. Presentan un característico brillo metálico. Las cepas que utilizan la lactosa poseen centro oscuro con periferia azulada o rosada, mientras que las que no lo hacen son incoloras.</p>

		Este medio permite el crecimiento de <i>Candida</i> spp. Como colonias rosadas y puntiformes; la siembra en profundidad permite el desarrollo de clamidosporas en <i>C. albicans</i> . <i>Enterococcus</i> spp. Crece en este medio como colonias puntiformes y transparentes, mientras que <i>Acinetobacter</i> spp. Y otras bacterias oxidativas pueden dar colonias de color azul. En este medio se obtiene además, un buen desarrollo de especies de <i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i> .
Agar salmonella-shigella S&S (3)	Medio de cultivo utilizado para el aislamiento de <i>Salmonella</i> spp. y de algunas especies de <i>Shigella</i> spp.	Los pocos microorganismos fermentadores de lactosa capaces de desarrollar, acidifican el medio haciendo virar al rojo el indicador de pH, obteniéndose colonias rosadas o rojas sobre un fondo rojizo. <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> y otros microorganismos no fermentadores de lactosa, crecen bien en el medio de cultivo, y producen colonias transparentes. La producción de ácido sulfhídrico se evidencia como colonias con centro negro debido a la formación de sulfuro de hierro.
Agar sangre (3)	Medio para propósitos generales, para el aislamiento y cultivo de numerosos microorganismos. Con la adición de sangre, el medio es útil tanto para el aislamiento y cultivo de microorganismos aerobios y anaerobios nutricionalmente exigentes a partir de una gran variedad de muestras, como para la observación de reacciones de hemólisis.	Alfa hemólisis: halo amarillo alrededor de la colonia. Beta hemólisis: halo transparente alrededor de la colonia. Sin hemólisis: no existe halo.

Con información de:

- 1 BAILÓN. Lucía, Atlas de pruebas bioquímicas. México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2003, p. 1-175.

- 2 SEIJA. Verónica, Cocos Gram positivos: aspectos prácticos. Citado en <http://www.higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2019.pdf>
- 3 Laboratorios Britania S.A. 2010, <http://www.britanialab.com/>

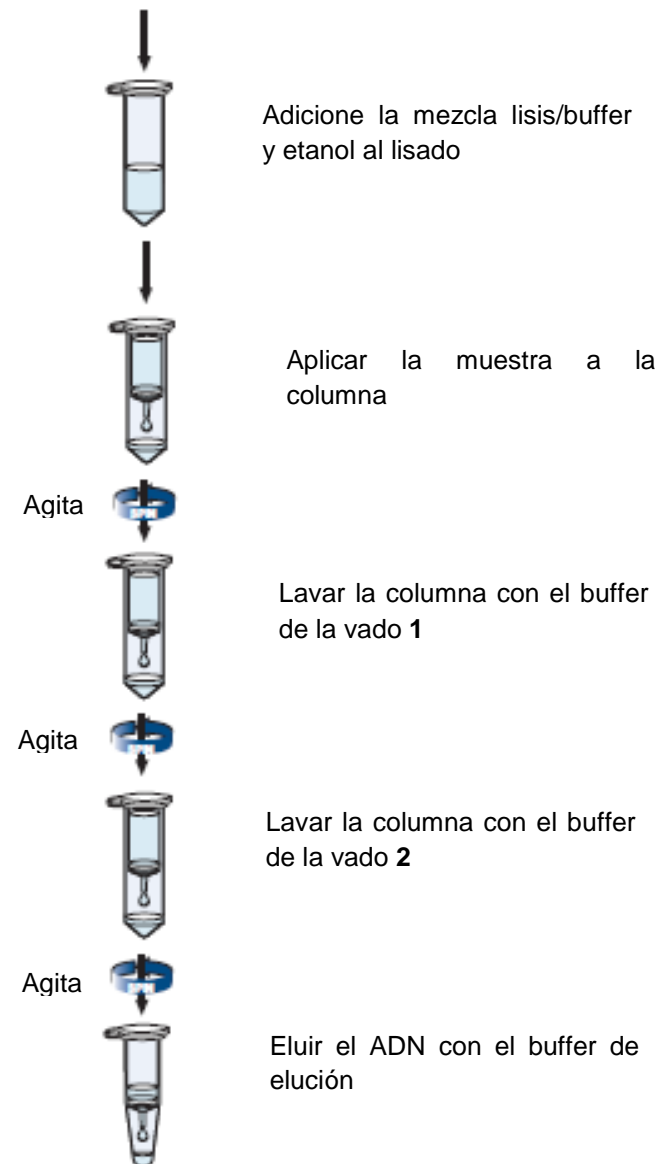
Anexo C

Protocolos extracción de ADN

- Método extracción PureLink® Genomic DNA Kit:

Procedimiento para purificar ADN genómico

Preparar el lisado celular usando el buffer de digestión y la proteinasa K



Preparación del lisado en bacterias Gram-negativas

1. Configure los bloques de calor a 55°C.
2. Cosechar hasta 2×10^9 células (~1 mL de cultivo overnight *E. coli*) por centrifugación. Si se está usando un pellet de células congeladas proceder con el paso 3.
3. Re suspender el pellet en 180 μ L del buffer de Digestión. Adicione 20 μ L de Proteinasa K (en el kit) para lisar las células. Mezclar brevemente en vórtice.
4. Incubar el tubo a 55°C con vortixado ocasional hasta que la lisis se complete (30 minutos a 4 horas).
5. Adicione 20 μ L RNasa A (en el kit) para el lisado Mezclar brevemente en vórtice, e incubar a temperatura ambiente por 2 minutos.
6. Adicione 200 μ L Genomic Lysis/Binding Buffer Mezclar brevemente en vórtice hasta obtener una solución homogénea.
7. Agregar 200 μ L de etanol 96-100% para el lisado. Mezclar brevemente en vórtice por 5 segundos hasta obtener una solución homogénea.

Preparación del lisado en bacterias Gram-positivas

1. configurar bloques de calor a 37°C y 55°C, respectivamente.
2. Preparar el Buffer de Digestión. A ~200 μ L Buffer de digestión Lisozima /muestra, adicionar Lisozima **fresca** para obtener una concentración final de Lisozima de 20 mg/mL.
3. Cosechar hasta 2×10^9 células (~1 mL de cultivo overnight *E. coli*) por centrifugación. Si se está usando un pellet de células congeladas proceder con el paso 4.
4. Re suspender el pellet de células en 180 μ L Buffer de digestión Lisozima que contenga la Lisozima del paso 2. Mezclar brevemente en vórtice.
5. Incubar a 37°C por 30 minutos.
6. Adicionar 20 μ L de Proteinasa K (en el kit). Mezclar brevemente en vórtice.
7. Adicionar 200 μ L de Genomic Lysis/Binding Mezclar brevemente en vórtice.
8. Incubar a 55°C por 30 minutos.
9. Agregar 200 μ L de etanol 96-100% al lisado Mezclar brevemente en vórtice por 5 segundos hasta obtener una solución homogénea.
10. Remover la Columna en un tubo colector.
11. Adicionar el lisado (~640 μ L) preparado con Lysis/Binding Buffer y etanol a la Columna.
12. Centrifugue la columna a 10,000 $\times g$ por 1 minuto a temperatura ambiente.
13. Descartar el tubo colector y pasar el contenido a una columna limpia.

14. Proceder a lavar el ADN.
15. Adicionar 500 μ L del Wash Buffer 1 preparado con etanol a la columna.
16. Centrifugue la columna a temperatura ambiente a 10,000 \times g por 1 minuto.
17. Descarte el tubo colector y traspase la columna a un tubo colector limpio.
18. Adicionar 500 μ L del Wash Buffer 2 preparado con etanol a la columna.
19. Centrifugue la columna a máxima velocidad por 3 minutos a temperatura ambiente. Descarte el tubo colector.
20. Eluir el ADN Adicionando de 25-200 μ L de PureLinkR Genomic Elution Buffer a la columna.

- Protocolo Kit Quiagen

Preparación del Buffer AW1 Y AW2

Los buffer AW1 y AW2 se suministran concentrados. Antes de usar por primera vez se le agrega el volumen apropiado de etanol (96 – 100%) como se indica en la botella, agitándolo. Los buffer AW1 y AW2 son estables por lo menos por 1 año después de la adición de etanol cuando se conserva a temperatura ambiente (15 – 25° C).

Buffer AL

Purificación de ADN de sangre animal, cultivo de células o bacterias gram positivas

El buffer AL debe ser agregado a la muestra e incubarse a 56° C antes de agregar el etanol. Asegúrese que el etanol no haya sido agregado al buffer AL con anterioridad.

Protocolo: Pretratamiento para bacterias gram positivas

Este protocolo está diseñado para la purificación total del ADN de una bacteria gram positiva como *Corynebacterium* spp y *B. subtilis*. El protocolo describe la extracción preliminar de las bacterias y la incubación con lisozima para romper la pared celular antes de purificar el ADN.

Procedimiento

1. Coseche células (máximo 2 \times 10⁹ células) en un tubo de microcentrífuga para centrifugar por 10 minutos a 5000 \times g (7500 rpm). Descarte el sobrenadante.

2. Resuspenda el pellet bacteriano en 180 µl del buffer de lisis enzimática.
3. Incube por al menos 30 minutos. Antes d incubar, ponga el baño de maría a 56 °C si lo va a usar en el paso 5.
4. Agregue 25 µl de proteinasa K y 200 µl del Buffer AL (sin etanol). Mezcle en el vórtex.

Nota: No agregue la proteinasa K directamente al buffer AL.

5. Incube a 56 °C por 30 minutos.

Opcional: Si requiere incubar a 95 °C por 15 minutos para inactivar patógenos. Tenga en cuenta que la incubación a 95 °C puede conducir a la degradación de algún ADN.

6. Adicione 200 µl de etanol (96 – 100%) a la muestra y mezcle por completo en el vórtex.

Es importante que la muestra y el etanol sean mezclados por completo para producir una solución homogénea.

Un precipitado blanco puede formarse al adicionar el etanol. Es importante aplicar todo el precipitado a la columna DNeasy Mini spin. Este precipitado no interfiere con el procedimiento.

7. Continúe con el paso 4 del protocolo “Purificación total de ADN para tejido animal (Protocolo Spin-columna).

Protocolo: Pretratamiento para bacterias gram negativas

Este protocolo se diseñó para la purificación total de ADN para bacterias gram negativas como E. coli. El protocolo describe la extracción preliminar de las bacterias antes de la purificación del ADN.

Para tener en cuenta antes de empezar

- Vea “Cuantificación del material”, para todos los detalles de cómo obtener y almacenar las muestras, además de como determinar el número de células en un cultivo bacteriano.
- Asegúrese que el etanol no ha sido agregado al Buffer AL (ver “Buffer AL” página 18). El buffer AL puede ser adquirido por separado.

Este protocolo de pretratamiento no ha sido probado exhaustivamente ni optimizado para la purificación de alto rendimiento de ADN. Como una guía

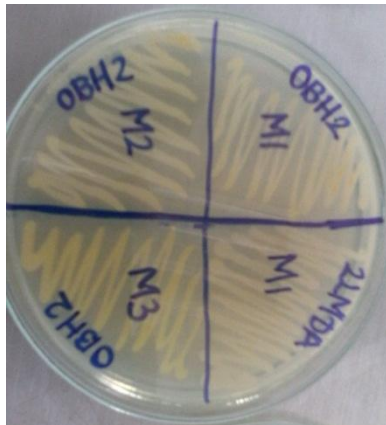
general, recomendamos disminuir la cantidad de material inicial cuando se use este protocolo.

Procedimiento

1. Coseche células (máximo 2×10^9 células) en un tubo de microcentrífuga para centrifugar por 10 minutos a $5000 \times g$ (7500 rpm). Descarte el sobrenadante.
2. Resuspenda el pellet en 180 μ l de Buffer ATL
3. Continúe con el paso 2 del protocolo "Purificación total de ADN de tejidos animales (Protocolo spin-columna)".

Análisis bacteriológico de fómites en la sede central de la Universidad Surcolombiana

Autores:
Hernán Rodríguez Orejuela
Alex Vargas Renza



Universidad Surcolombiana
2016

Anexo D

¿Qué es un FÓMITE? Son objetos inanimados capaces de albergar microorganismos y propagar una infección.

1. Resumen

Este trabajo se hace con el fin de caracterizar las bacterias presentes en los fómites de la Universidad Surcolombiana que pueden causar enfermedades a la comunidad que habita estos lugares, la recolección de las muestras se hará de manera aleatoria en sitios como inodoros, lavamanos, mesones y mesas de cafeterías siguiendo protocolos para identificación bacteriana mediante morfología y metabolismo, así como extracción de ADN.



2. Objetivos

General

- Realizar un análisis bacteriológico en las superficies inanimadas de la Universidad Surcolombiana, sede central en la ciudad de Neiva-Huila durante el periodo comprendido entre el año 2015 y 2016

Específico

- Caracterizar las bacterias presentes en las áreas con mayor afluencia de personas en la Universidad Surcolombiana: baños y cafeterías.

3. Materiales



4. Resultados

a) Primer Muestreo

Sanitario Mujeres (AA): S. *epidermidis*, S. *saprophyticus*, B. *cereus* y *Listeria spp.*

Sanitario Mujeres (DA): S. *epidermidis* y S. *saprophyticus*.

Lavamanos Mujeres (AA): S. *epidermidis* y S. *saprophyticus*.

Lavamanos Mujeres (DA): *Listeria spp.*

Sanitario Hombres (AA): S. *epidermidis*, S. *saprophyticus* y B. *cereus*.

Sanitario Hombres (DA): S. *saprophyticus*.

Lavamanos Hombres (AA): Ninguna

Lavamanos Hombres (DA): S. *epidermidis*.

Orinal Hombres: S. *epidermidis* y S. *saprophyticus*.

Mesa Cafetería: S. *saprophyticus* y *Listeria spp.*

Mesón Cafetería: S. *epidermidis*, S. *saprophyticus* y *Listeria spp.*

b) Segundo Muestreo

Sanitario Mujeres (AA): S. *epidermidis* y B. *cereus*.

Sanitario Mujeres (DA): Ninguna.

Sanitario Mujeres Artes: S. *epidermidis*, B. *cereus*, y *Listeria spp.*

Lavamanos Mujeres (AA): S. *epidermidis*.

Lavamanos Mujeres (DA): S. *epidermidis*, *Neisseria sp.*, B. *cereus* y *Listeria spp.*

Lavamanos Mujeres Artes: S. *saprophyticus* y *Listeria spp.*

Sanitario Hombres (AA): S. *saprophyticus*, B. *cereus*, B. *Subtilis* y *Listeria spp.*

Sanitario Hombres (DA): S. *epidermidis* y S. *saprophyticus*.

Sanitario Hombres Artes: S. *epidermidis* y S. *saprophyticus*.

Lavamanos Hombres (AA): *Listeria spp.*

Lavamanos Hombres (DA): S. *epidermidis*, *Pseudomonas sp.* y *Pasteurella sp.*

Lavamanos Hombres Artes: S. *saprophyticus* y *Klebsiella sp.*

Orinal Hombres: S. *epidermidis*.

Orinal Hombres Artes: S. *aureus*.

Mesa Cafetería: S. *epidermidis*, B. *cereus*, B. *subtilis*, C. *perfringens*, C. *botulinum*, *Micrococcus sp.* y *Listeria spp.*

5. Conclusiones

- Los lugares con la mayor cantidad de colonias bacterianas encontradas en los dos muestreos realizados fueron los lavamanos, con la particularidad que aún después de realizado el aseo no disminuyeron las colonias.
- Las maniobras de aseo, cumplen con su objetivo de desinfección en las superficies como sanitarios, mientras que no tienen ningún efecto o incluso, y lo más grave, es que presentan el efecto contrario en los lavamanos.

6. Recomendaciones

A todo el público en general hacer uso más seguido de métodos de asepsia como el lavado de manos con buen jabón y alcohol cada vez que se use cualquier sitio público para evitar posibles enfermedades ya que las bacterias están en todo lo que nos rodea.