

ANÁLISIS DEL RIESGO MICROBIOLÓGICO DEL AIRE EN DOS LABORATORIOS DE  
LA UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS SEDE VILLAVICENCIO CAMPUS AGUAS  
CLARAS.



MAYLIN XIOMARA LOAIZA HERNÁNDEZ  
LYSETH TATIANA RUIZ ACERO



UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS  
FACULTAD INGENIERÍA AMBIENTAL  
VILLAVICENCIO

2019

ANÁLISIS DEL RIESGO MICROBIOLÓGICO DEL AIRE EN DOS LABORATORIOS DE  
LA UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS SEDE VILLAVICENCIO CAMPUS AGUAS  
CLARAS.

MAYLIN XIOMARA LOAIZA HERNÁNDEZ  
LISETH TATIANA RUIZ ACERO

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Ingeniera Ambiental

Asesor

DIANA CAROLINA MÉNDEZ LEAL  
Profesional en Microbiología agrícola y veterinaria

UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS  
FACULTAD INGENIERÍA AMBIENTAL  
VILLAVICENCIO

2019

**Autoridades Académicas**

**P. JOSÉ GABRIEL MESA ANGULO, O.P.**

Rector General

**P. EDUARDO GONZÁLEZ GIL, O.P.**

Vicerrector Académico General

**P. JOSÉ ANTONIO BALAGUERA, O.P.**

Rector Sede Villavicencio

**P. RODRIGO GARCÍA JARA, O.P.**

Vicerrector Académico Sede Villavicencio

**JULIETH ANDREA SIERRA TABÓN**

Secretaria de División Sede Villavicencio

**YÉSICA NATALIA MOSQUERA BELTRÁN**

Decano Facultad de Ingeniería Ambiental

## **Agradecimientos**

La realización de este Trabajo de grado fue posible:

Primeramente, a Dios por brindarnos la vida, la salud, el amor, la sabiduría e inteligencia para lograr alcanzar nuestros objetivos.

A nuestros padres por su paciencia, colaboración, solidaridad y amor en todo momento; por sus consejos, valores, ejemplos de perseverancia y constancia para salir adelante y finalizar el proyecto.

A nuestra alma mater, Universidad Santo Tomás de Villavicencio, en especial a la facultad de Ingeniería Ambiental por nuestra formación académica.

A la asesora, profesora y coordinadora de Laboratorios de la Universidad Diana Carolina Méndez Leal por su constante apoyo, enseñanzas, paciencia; motivación en el planteamiento y desarrollo de la investigación y por brindarnos los conocimientos necesarios para llevar a cabo satisfactoriamente el Trabajo de grado.

A las auxiliares de los laboratorios de Microbiología y Toxicología por ser nuestra guía en el proceso del laboratorio durante la ejecución del proyecto investigativo.

Finalmente agradecemos a nuestras parejas por brindarnos su apoyo; paciencia, consejos y amor en el transcurso del desarrollo del trabajo.

## Tabla de contenido

	Pág.
Resumen .....	11
Abstract .....	12
1. Introducción .....	13
2. Planteamiento del problema .....	15
2.1. Descripción del problema.....	15
2.2. Formulación en torno al problema.....	16
2.3. Hipótesis Nula .....	16
2.4. Hipótesis Alternativa .....	16
3. Objetivos .....	17
3.1. Objetivo general .....	17
3.2. Objetivos específicos .....	17
4. Justificación.....	18
5. Alcance del proyecto .....	19
6. Antecedentes .....	20
7. Marco referencial .....	22
7.1. Marco teórico.....	22
7.2. Marco conceptual .....	24
7.3. Marco legal .....	25
8. Metodología .....	26
8.1. Diseño de estudio.....	26
8.2. Diseño experimental .....	27

8.2.1.	Fase 1: Cuantificar e identificar el género de bacterias y hongos y levaduras presentes en el aire de los laboratorios objeto de estudio.....	27
8.2.2.	Fase 2. Clasificar los microorganismos presentes en los laboratorios objeto de estudio según su nivel de riesgo a la salud humana.....	31
8.2.3.	Fase 3. Establecer protocolo de bioseguridad y recomendaciones de mitigación al riesgo en infraestructura para la protección a los usuarios en estos dos recintos. ....	32
9.	Resultados y Análisis de Resultados .....	33
9.1.	Fase 1: Cuantificar e identificar el género de bacterias y hongos y levaduras presentes en el aire de los laboratorios en estudio. ....	33
9.1.1.	Muestreo preliminar: conteo de UFC y determinación de puntos críticos .....	33
9.1.2.	Características microscópicas de las colonias recuperadas: .....	35
9.1.3.	Identificación de bacterias mediante pruebas bioquímicas .....	37
9.1.4.	Identificación de hongos mediante claves taxonómicas.....	41
9.2.	Fase 2. Clasificar los microorganismos presentes en los laboratorios objeto de estudio según su nivel de riesgo a la salud humana.....	44
9.3.	Fase 3. Establecer protocolo de bioseguridad y recomendaciones de mitigación al riesgo en infraestructura para la protección a los usuarios en estos dos recintos.....	47
9.3.1.	Formulación del protocolo de bioseguridad.....	47
10.	Discusión.....	52
11.	Conclusiones. ....	59
12.	Recomendaciones.....	60
13.	Referencias bibliográficas.....	61
14.	Anexos.....	65

## Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Normatividad.....	25
Tabla 2. Puntos plasmados aleatorios para el estudio preliminar.....	28
Tabla 3. Total de cajas de Petri montadas para la toma de muestras. ....	29
Tabla 4. Puntos de mayor población de microorganismos del laboratorio de Biología y Microbiología.....	33
Tabla 5. Puntos críticos de población microbiana del laboratorio de Toxicología y Biotecnología. ....	34
Tabla 6. Morfología microscópica de las bacterias recuperadas en los laboratorios de Biología y Microbiología y de Toxicología y Biotecnología .....	35
Tabla 7. Resultados de las pruebas bioquímicas .....	40
Tabla 8. Clasificación de agentes biológicos. ....	45
Tabla 9. Clasificación de géneros bacterianos según su nivel de riesgo.....	46

## Lista de figuras

	Pág.
Figura 1. Diagrama de Flujo Metodológico. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.....	26
Figura 2. Frecuencia morfológica de las bacterias recuperadas en el aire de los laboratorios de Biología y Microbiología y Toxicología y Biotecnología. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.....	36
Figura 3. Frecuencia de las colonias de hongos recuperadas en cada laboratorio. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019. ....	37
Figura 4. Porcentajes de frecuencia de géneros bacterianos. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019. ....	38
Figura 5. Observación microscópica 100X del género Staphylococcus sp. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.....	39
Figura 6. Observación microscópica en 100X del género Bacillus subtilis y Bacillus sp. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019. ....	40
Figura 7. Observación microscópica en 100X del género Bacillus cereus. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.....	40
Figura 8. Porcentajes de frecuencia de géneros fúngicos. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.....	42
Figura 9. Observación microscópica con el objetivo 40x del género Rhizopus sp. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.....	43
Figura 10. Observación microscópica en 40x del género Aspergillus sp. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.....	43
Figura 11. Observación microscópica en 40x del género Cladosporium sp. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.....	44
Figura 12. Observación microscópica en 40x del género Mucor sp. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.....	44
Figura 13. Observación microscópica en 40x del género Penicillium sp. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.....	45
Figura 14. Relación de los grupos de riesgo con los niveles de bioseguridad de laboratorios. Tomada de (Organización Mundial de la Salud, 2005) .....	47



Figura 15. Plano delimitado del laboratorio de Biología y Microbiología. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.....	65
Figura 16. Plano delimitado del laboratorio de Toxicología y Biotecnología. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.....	66
Figura 17. Toma de muestras del muestreo preliminar. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.....	67
Figura 18. Muestreo preliminar en el laboratorio de Toxicología y Biotecnología. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.....	67

### Lista de anexos

	Pág.
Anexo 1. Delimitación y proceso de montaje preliminar del laboratorio de Biología y Microbiología.....	65
Anexo 2. Delimitación y proceso de montaje preliminar del laboratorio de Toxicología y Biotecnología. ....	66
Anexo 3. Evidencia fotográfica del muestreo preliminar laboratorio de Biología y Microbiología.....	67
Anexo 4.Evidencia fotográfica del muestreo preliminar para el laboratorio de Toxicología y Biotecnología. ....	67

## Resumen

La determinación de los microorganismos en el aire interior se vuelve importante cuando se analiza la incidencia en la salud de las personas que frecuentan ambientes internos, ya que el aire es un medio de dispersión de muchos microorganismos patógenos como bacterias, hongos y levaduras. En el presente trabajo se identificó la posible exposición a microorganismos patógenos presentes en el aire y se determinó el nivel de riesgo a la salud que pueden llegar a generar a los usuarios que hacen uso o realizan actividades académicas en los laboratorios de Biología y Microbiología y de Toxicología y Biotecnología de la Universidad Santo Tomás de Villavicencio campus Aguas Claras. La metodología que se empleó para lograr el objetivo de la investigación se dividió en 3 fases: 1 cuantificar e identificar el género de bacterias, hongos y levaduras presentes en el aire de los laboratorios en estudio, 2 clasificar los microorganismos presentes en los laboratorios objeto de estudio según su nivel de riesgo en la salud humana y 3 establecer protocolo de bioseguridad y recomendaciones de mitigación al riesgo en infraestructura para la protección a los usuarios en estos dos recintos.

En los muestreos se obtuvo mayor cantidad de bacterias Gram positivas (61%) que Gram negativas (39%), identificando los géneros *Staphylococcus sp*, *Bacillus sp*, *Bacillus cereus* y *Bacillus subtilis* como Gram positivas y *Enterobacter Aerogenes*, *Escherichia Coli*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Klebsiella Oxytoca*, *Salmonella sp*, *Shigella sp*, *Shigella sonnei* y *Yersinia Pseudotuberculosis* como Gram negativas. En hongos se determinó que los géneros aislados con mayor frecuencia de reconocimiento en los dos laboratorios objeto de estudio fue *Rhizopus* y *Aspergillus*, a diferencia de *Cladosporium*, *Mucor* y *Penicillium* que presentaron menor frecuencia.

**Palabras clave:** Calidad microbiológica del aire, nivel de riesgo microbiológico, bioseguridad, microorganismos.

### Abstract

The determination of microorganisms in indoor air becomes important when analyzing the health impact of people who frequent internal environments, since air is a means of dispersion of many pathogenic microorganisms such as bacteria, fungi and yeasts. In the present paper the possible exposure to pathogenic microorganisms present in the air was identified and the level of health risk that can be generated to users who make use or carry out academic activities in the Biology and Microbiology and Toxicology and Biotechnology laboratories was determined at Santo Tomás University in Villavicencio, Aguas Claras campus. The methodology used to achieve the objective of the research was divided into 3 phases: 1 quantify and identify the genus of bacteria and fungi and yeasts present in the air of the laboratories under study, 2 classify the microorganisms present in the laboratories subject to study according to their level of risk in human health and 3 establish biosafety protocol and recommendations for mitigation of risk in infrastructure for the protection of users in these two enclosures.

In the samples, a greater quantity of Gram positive bacteria (61%) than Gram negative bacteris (39%) were obtained, identifying the genera *Staphylococcus sp*, *Bacillus sp*, *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* as Gram positives and *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Salmonella sp*, *Shigella sonnei* and *Yersinia pseudotuberculosis* as Gram negative. In fungi it was determined that the isolated genera with the highest frequency of recognition in the two laboratories under study were *Rhizopus sp* and *Aspergillus sp*, unlike *Cladosporium sp*, *Mucor sp* and *Penicillium sp*, which presented less frequency.

**Key Word:** Microbiological air quality, microbiological risk level, biosecurity, microorganisms.

## 1. Introducción

La atmosfera es el medio perfecto para la dispersión de microorganismos y su transporte puede realizarse en forma de bioaerosoles que les permiten recorrer grandes distancias con el movimiento del aire; también pueden transportarse por medio de partículas de polvo, fragmentos de hojas secas, la piel, fibras de la ropa, en gotas de agua o en gotas de saliva eliminadas al toser, estornudar o hablar (Herrera, 2009).

La composición y la concentración de los microorganismos en el aire varían de acuerdo al tipo de edificación, características de construcción, localización geográfica, número de personas presentes, actividades que se realizan, sistemas de ventilación, limpieza del sitio y condiciones micro climáticas como humedad relativa y temperatura. Es por eso que el grado de contaminación en ambientes interiores pueden abarcar desde una simple fatiga o incomodidad, hasta alergias, también se pueden generar enfermedades respiratorias, infecciones y cáncer, entre otras; lo anterior, es debido a que sus labores se desarrollan en lugares cerrados la mayor parte del tiempo, siendo los más afectados los niños y las personas mayores (García et al., 2005).

El interés de la calidad del aire de los laboratorios comenzó a tomarse en consideración durante los últimos 60 años, cuando los problemas de contaminación biológica se convirtieron en el foco de atención de los investigadores, debido a las molestias en la salud y el bajo rendimiento que estaban presentando los trabajadores y usuarios en las actividades laborales o académicas que se realizan en estos lugares (Pelczar & Reid, 1966). Por esta razón se estableció el término calidad del aire interior (IAQ) que se refiere a la calidad del aire dentro y alrededor de estructuras cerradas como lo son colegios, oficinas, hogares, laboratorios y ambientes no industriales, con el objeto de generar ambientes cómodos y sanos a los ocupantes de estos sitios (Bukar, Digima, Bwala, & Ibrahim, 2017).

La Organización Mundial de la Salud estima que mundialmente hasta el 30% de los sitios cerrados pueden tener efectos significativos relacionados con la salud de los ocupantes, tales como jaquecas, náuseas, mareos, resfriados persistentes, irritaciones de las vías respiratorias, piel y ojos, todos estos efectos o problemas se percibe que están relacionados con la deficiente calidad de aire interior (Pernilla, 2013).

Actualmente, no existen parámetros o normas que determinen las concentraciones permisibles de patógenos en el aire. Sin embargo, algunos estudios e investigaciones se interesaron en determinar las fuentes, concentraciones y la transmisión potencial de microorganismos bacterianos y fúngicos, como tal es el caso de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas sp*, *Aspergillus sp*, *Fusarium sp*, *Cladosporium sp* y entre otros (Méndez, Camacho, & Echeverry, 2015).

Por otro lado, si existen diferentes métodos e instrumentos para la recolección de microorganismos en el aire, una de las técnicas es la de sedimentación por gravedad utilizada por primera vez en el año 1887, es el método más empleado debido a que puede realizarse en cualquier espacio, es práctico, económico y representa una buena herramienta para trabajos cualitativos (González, 2006). Emplear esta técnica y otras más, son necesarias para monitorear la calidad microbiológica del aire de los laboratorios de Ciencias Básicas y otros ambientes, teniendo en cuenta las medidas correctivas para mantenerlos dentro de los niveles permisibles y así evitar contraer infecciones por parte del personal, estudiantes y docentes.

Es por ello y puesto que no se conoce un estudio de microorganismos en el aire de los laboratorios de microbiología y toxicología de la Universidad Santo Tomás de la ciudad de Villavicencio, fue adecuado orientar el presente proyecto a la evaluación de la calidad microbiológica del aire a través del método sedimentación por gravedad; llevando a cabo la caracterización de géneros bacterianos y fúngicos presentes en los puntos seleccionados de muestreo, realizando un conteo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) y reconocimiento microscópico e identificación de bacterias, hongos y levaduras presentes, relacionándolas con las posibles afectaciones a la salud de las personas que realizan actividades académicas y de investigación en los laboratorios.

## **2. Planteamiento del problema**

### **2.1. Descripción del problema**

De la Rosa et al. (2002) describe el aire como un componente vital para la calidad de vida del ser humano y tiene una particular incidencia en la salud de este. Actualmente, ocupa un interés primordial mundialmente, debido a que el aire es considerado transportador de partículas orgánicas e inorgánicas que pueden intervenir o no de forma directa o indirecta en la salud del hombre.

Entre los factores condicionantes, el tipo de actividad que se realice en un espacio interior, será determinante de la carga microbiana presente, además de los hábitos personales que determinarán el riesgo por exposición y vías de acceso (ingesta, inhalación o parental) ocasionando fatiga, alergias, infecciones, incluso cáncer (Romero, Castañeda, & Acosta, 2016).

Según la OMS (2005), la mayor parte de acontecimientos sobre infecciones tiene el habitual antecedente de “trabajo con el agente” y en el caso de los laboratorios se encuentra relacionado con las actividades desarrolladas en estos sitios como aspiración por pipeta, auto inoculación con agujas, accidentes de centrifugación, entre otras. Muchos de los cuales se pudieron haber evitado con una combinación de buenas técnicas microbiológicas, y equipos de seguridad apropiados (Organización Mundial de la Salud, 2005).

La seguridad biológica es reconocida por la Organización Mundial de la Salud (OMS), como un tema de interés internacional, por este motivo se publicó en 1983 la primera edición del Manual de Bioseguridad en el laboratorio, en donde se incita a los países a reconocer y emplear los conceptos básicos en materia de seguridad biológica y a elaborar códigos nacionales para el manejo sin riesgo de microorganismos patógenos en los laboratorios; debido a los acontecimientos mundiales que han manifestado la existencia de nuevas amenazas para la salud pública procedentes del uso indebido de agentes y toxinas microbianas (Organización Mundial de la Salud, 2005).

Por tanto, la presente propuesta buscará determinar la densidad microbiana (bacterias, hongos y levaduras), al interior de los dos laboratorios de Biología y Microbiología y de Toxicología y Biotecnología de la Universidad Santo Tomás sede Villavicencio, en los cuales debido a las actividades académicas que se llevan a cabo, manipulan microorganismos a partir de diversas muestras, así mismo se determinará la presencia y la identificación de patógenos para humanos a

partir de los aislamientos que se obtengan, de modo que se propondrán protocolos de comportamiento para usuarios y condiciones de mejora en infraestructura.

## **2.2. Formulación en torno al problema**

¿Cuál es el nivel de riesgo microbiológico para la salud de los usuarios de los laboratorios de Biología y Microbiología; y el de Toxicología y Biotecnología de la Universidad Santo Tomás campus Aguas Claras?

## **2.3. Hipótesis Nula**

Los niveles de riesgo microbiológico para la salud del personal estudiantil y de laboratorios no se clasificarán ni en nivel de riesgo 1 y 2, donde es poco probable que cause enfermedades en el hombre y suponer un peligro para los usuarios de los laboratorios; y ni en nivel de riesgo 3 y 4, donde puede que se generen enfermedades humanas serias o letales.

## **2.4. Hipótesis Alternativa.**

Los niveles de riesgo microbiológico para la salud del personal estudiantil y de laboratorio se encontrarán clasificados en nivel de riesgo 1, donde es poco probable que cause enfermedades en el hombre y en nivel de riesgo 2, donde puede que cause enfermedades en el hombre y suponer un peligro para los usuarios de los laboratorios.



### **3. Objetivos**

#### **3.1. Objetivo general**

Determinar el riesgo microbiológico de los laboratorios de Biología y Microbiología y el de Toxicología y Biotecnología de la Universidad Santo Tomás campus Aguas Claras, para establecer medidas de manejo y protección a la salud de los usuarios expuestos a estos.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Cuantificar e identificar el género de bacterias y hongos y levaduras presentes en el aire de los laboratorios en estudio.
- Clasificar los microorganismos presentes en los laboratorios objeto de estudio según su nivel de riesgo en la salud humana.
- Establecer protocolos de bioseguridad y recomendaciones de mitigación al riesgo en infraestructura para la protección a los usuarios en estos dos recintos.

#### **4. Justificación**

En los laboratorio de Biología y Microbiología y de Toxicología y Biotecnología de la Universidad Santo Tomás campus Aguas Claras, se llevan a cabo procesos de aprendizaje relacionadas con biología, microbiología básica, microbiología ambiental, psicobiología, neurociencia, sensopercepción y toxicología ambiental, cerca de 14 trabajos de grado en diversos temas microbiológicos y proyectos de investigación con diversa manipulación de muestras biológicas; es decir, brinda servicios académicos a aproximadamente 160 usuarios mensualmente, entre estudiantes, docentes y funcionarios administrativos, que hacen parte de los programas de Ingeniería Ambiental, Psicología y coordinación de laboratorios de la sede, los cuales podrían estar expuestos a bacterias, hongos y levaduras presentes en el aire.

Aunque actualmente, a partir de la coordinación de laboratorios se generó el protocolo en seguridad para laboratorios, es necesario conocer con exactitud la carga de bacterias, hongos y levaduras presentes en estos dos laboratorios, tanto para ajustar dichas normas, como para buscar incrementar las buenas prácticas de laboratorio –BPL- entre sus usuarios y posibles recomendaciones en adecuaciones de infraestructura que mitiguen el riesgo a padecer algún proceso infeccioso.

Sin duda, existen protocolos de bioseguridad y el actual reglamento de laboratorio de la Universidad, sin embargo estos no son un código genérico y universal aplicable a todas las situaciones, estos se han de desarrollar a partir de la evaluación del riesgo de los agentes y actividades al interior de cada laboratorio; por tanto, el presente proyecto será un insumo parcial en la creación de dicho manual, ya que aportará a la aplicación de recomendaciones especiales al interior de estos laboratorio, a partir del estudio de la actividad microbiológica presente en el aire.

En vista de que los laboratorios no cuentan con un estudio o investigación de la actividad microbiológica presente en el aire, se planteó este proyecto con el objetivo de analizar y determinar agentes infecciosos en dichos laboratorios y a su vez establecer el riesgo a la salud al que se exponen los usuarios.

## **5. Alcance del proyecto**

El proyecto de investigación propuesto, se llevó a cabo en los laboratorios de Microbiología y Biología y de Toxicología y Biotecnología de la Universidad Santo Tomás, campus Aguas Claras de la ciudad de Villavicencio-Meta (Anexo 1 y Anexo 2). Donde se determinó el nivel de riesgo microbiológico a la salud y a su vez se formularon recomendaciones por medio de un Protocolo de Bioseguridad que contribuirá en la mejora de la calidad del aire de estos.

Para la escala temporal de la investigación se abarcó un periodo de 6 meses (Marzo a Septiembre), donde se realizaron las siguientes fases, la primera fase se cuantificó e identificó el género de bacterias y hongos y levaduras presentes en el aire de los laboratorios objeto de estudio en los primeros dos meses; la segunda fase, se llevó a cabo la clasificación de los microorganismos según su nivel de riesgo en la salud humana con una duración de un mes; en la última fase, se estableció el Protocolo de Bioseguridad para los laboratorios durante el mes de Julio y en los meses de Agosto y Septiembre se realizaron los análisis de resultados obtenidos y desarrollo del presente documento.

## 6. Antecedentes

En la década de los años treinta se originó la Aerobiología por Meier, la cual se ha definido como la ciencia de la atmosfera y se ocupa del estudio de los microorganismos vivos aerotransportados, su diversidad, su conducta y sus efectos sobre los seres humanos y el entorno. Los géneros bacterianos como *Bacillus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Serratia*, *Micobacterium*, *Staphylococcus*, entre otros; los géneros fúngicos como *Aspergillus* y *Pestalotia*, fueron los primeros microorganismos identificados en el aire de ambientes externos e internos. Por otro lado, en este mismo año se crearon los filtros para el aire de fibra de vidrio de alta eficiencia, el cual fue un avance importante para evitar la propagación de bacterias y virus a través del aire, utilizados en zonas asépticas (Ariatti, 1993).

En el año 1969, la Organización Mundial de la Salud (OMS) dicta las primeras normas para la calidad del aire interior en lo que se incluye principalmente control y prevención del crecimiento de microorganismos perjudiciales y nocivos para la salud humana, convirtiéndose en una práctica obligatoria llevar a cabo recuentos y controles periódicos del aire en ambientes cerrados como escuelas, universidades, edificios de oficinas, fabricas, entre otros (Rosa, Mosso, & Ullan, 2002).

La Universidad de Murcia en España en el año 2009 realizó un análisis microbiológico del aire en zonas del laboratorio de la Facultad de Biología para establecer los niveles y tipos de microorganismos en suspensión, a través del procedimiento de impacto, en donde se analizó bacterias y hongos en presencia o ausencia de personas para estimar la contaminación que introduce la actividad humana. De modo que la mayoría de bacterias que se encontró fue cocos gram-positivos de los géneros *Micro-coccus*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*; por otro lado, el hongo que se identifico fue *Cladosporium*, lo cual demostró que hay concentración microbiana en el área de estudio que corresponde a un nivel de contaminación bajo-intermedio, según las pautas establecidas por la Comisión de las Comunidades Europeas en 1993 (Soto et al., 2009).

En el mismo año, también se llevó a cabo una evaluación de la calidad del aire en los laboratorios de Microbiología, laboratorio de la Autoridad para el manejo Sustentable del lago de Amatitlán, Laboratorio de la empresa Municipal de Agua y el Laboratorio de Análisis Físicoquímicos y Microbiológicos en la ciudad de Guatemala y Bárcenas, Villa nueva; donde para la toma de muestras en el aire se empleó el método volumétrico por impactación con el equipo

biocolector; para el crecimiento de hongos se usó el medio de cultivo Sabouraud con NaCl a diferencia que para las bacterias se utilizó los medios de cultivo Plate Count Agar, Manitol Sal y MacConkey en cajas de Petri, los cuales se ubicaron en diferentes puntos de las áreas de estudio. Con el objetivo de caracterizar e identificar las colonias de microorganismos. Finalmente, como resultado se obtuvo que los hongos que predominaron en los laboratorios fueron los Cladosporium,

Penicillium y Aspergillus, reconocidos como agentes oportunistas por su comportamiento patógeno en los seres humanos, a comparación de la carga bacteriana que se encontró dentro de la norma internacional, lo cual no representa ningún riesgo para la salud ocupacional (Herrera, 2009).

En el año 2015 la Universidad Distrital Francisco José de Caldas de la Ciudad de Bogotá-Colombia desarrolló una investigación para determinar la posible exposición a bacterias patógenas transmitidas por el aire y determinar riesgos potenciales sobre la salud del personal que realiza actividades en el laboratorio de microbiología de esta misma Institución, a través del método de sedimentación por gravedad en Agar Nutritivo para bacterias aerobias y en Sulfito Polimixina

Sulfadiazina (SPS) para anaerobias, las cuales fueron caracterizadas microscópicamente y macroscópicamente, posteriormente identificadas y como resultado de esta investigación se obtuvo mayor cantidad de bacterias Gram positivas que Gram negativas, lo cual afecta la salud generando conjuntivitis, linfadenitis, diarreas e infecciones pulmonares (Romero et al., 2016).

En último lugar se tiene que, en Julio de 2016 se presentó una investigación sobre la calidad microbiológica ambiental en tres laboratorios de la Universidad Franklin Roosevelt de Huancayo, Perú; las muestras se obtuvieron según la técnica de exposición de placas al medio ambiente por un tiempo promedio de 30 minutos a una altura de 1.0 m del suelo, para lo cual se realizó recuento de aerobios mesófilos a través de placas con Agar PCA, para los mohos y levaduras se empleó placas con el medio de cultivo Agar Sabouraud y para la evaluación de la calidad higiénico-sanitario se usó placas con Agar Manitol Salado y Mac Conkey para el recuento de *S. aureus* y de *E. Coli*; todo ello con la finalidad de establecer comparaciones de los resultados obtenidos con los Criterios de calidad microbiológica ambiental para laboratorios, edificios y oficinas establecidos por la agencia de Protección de la Salud, donde se determinó que la calidad microbiológica en los espacios interiores analizados es aceptable (Ruiz & Ríos, 2016).

## 7. Marco referencial

### 7.1. Marco teórico

Los microorganismos del aire son capaces de crear estructuras para resistir y sobrevivir en este medio, tienen la capacidad de dispersarse en ambientes exteriores e interiores gracias a las corrientes de aire, las cuales se encargan de recoger los microorganismos presentes en otros ambientes naturales como el suelo, el agua, las plantas y la microbiota humana (Méndez et al., 2015).

El aire contiene en suspensión diferentes tipos de microorganismos, en particular bacterias y hongos, en donde la presencia de estos microorganismos es aportada por las personas que están presentes en estos sitios, el tipo de actividades que ellas realizan y hábitos personales. También influyen factores como el programa de aseo o limpieza, la temperatura, la ventilación y la humedad (Méndez et al., 2015).

En ambientes interiores se encuentra alta concentración de microorganismos que provienen del tracto respiratorio humano, donde la mayoría de microorganismos sobreviven con dificultad en el aire y generan infecciones de las vías respiratorias a diferencia de los ambientes exteriores que principalmente habitan los microorganismos del suelo (Borowik & Wyszowska, 2016).

De la Rosa et al. (2002) define los microorganismos con forma esporuladas como hongos, algas, líquenes, protozoos y algunas bacterias de género *Bacillus*, *Clostridium* y *Actinomicetos*, son los microorganismos que tienen la capacidad de sobrevivir mejor en la atmósfera debido a la habilidad de soportar la desecación. Entre las bacterias también es común encontrar en el aire bacilos Gram positivos *Corynebacterium* y cocos Gram positivos *Micrococcus* y *Staphylococcus*. En menor proporción se identifican los bacilos Gram negativos *Flavobacterium* y *Alcaligenes*, ya que estos microorganismos disminuyen con la altura y habitan con frecuencia en el suelo. Por otra parte, los hongos predominantes del aire son los géneros *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium* y *Alternaria*.

A través del estudio de la microbiología en el aire ha permitido promover el mejoramiento de la asepsia, reducir la contaminación cruzada, mejorar los procesos de limpieza y desinfección,

establecer normas de aislamiento dentro de los laboratorios, identificar zonas críticas y mejorar el saneamiento de ambientes internos (Izquierdo, 2016).

Actualmente, existe gran cantidad de métodos e instrumentos para detectar los microbios del aire, sin embargo, la más utilizada, sencilla y económica es la técnica de sedimentación en placa Petri que consiste en exponer placas con medio nutritivo sólido al ambiente durante un periodo determinado, luego se procede a incubar las placas y posteriormente hacer el recuento de las colonias obtenidas. El tiempo de exposición depende del ambiente a evaluar, mientras mayor sea la contaminación, menor será el tiempo de exposición de las mismas; las placas se deben exponer en el mismo lugar y bajo las mismas condiciones para poder comparar los resultados obtenidos (Rosa et al., 2002).

Por otro lado, hay muchos microorganismos que permanecen en los espacios cuando no se cumplen los protocolos de bioseguridad en los laboratorios; existen leyes sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a estos agentes durante el desarrollo de las tareas que desempeñan en el sitio de trabajo, los cuales conllevan riesgos vinculados a la exposición de agentes como virus, bacterias y parásitos, los cuales pueden entrar en contacto con piel, mucosas, sangre y otros (Institución Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2014).

Esta legislación establece cuatro niveles de riesgos, de riesgo 1 como riesgo mínimo, ya que son microorganismos que tienen pocas probabilidades de producir enfermedades en humanos y animales, el riesgo 2 son microorganismos que pueden provocar enfermedades humanas o animales, la exposición en el laboratorio puede provocar una infección grave, pero existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces y el riesgo de propagación es limitado, el riesgo 3 son microorganismos que suelen provocar enfermedades humanas o animales graves, pero que ordinariamente no se propagan de un individuo a otro y finalmente, el riesgo 4 como riesgo extremo, según la potencialidad de los mismos en producir enfermedades graves en el ser humano o los animales y que se transmiten fácilmente de un individuo a otro, directa o indirectamente; Normalmente no existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces. Debido a esto, el riesgo individual y poblacional es elevado (Díaz, 2012).

## 7.2. Marco conceptual

Los microorganismos son un componente habitual que se encuentra en los diversos ambientes y materiales. La presencia de microorganismos en el aire de ambientes interiores, puede causar afectaciones a la salud humana como trastornos alérgicos, infecciones, fatiga e incluso hasta cáncer, siendo objeto de interés en los últimos años, debido a que el aire es principal vehículo de dispersión de los contaminantes atmosféricos (hongos, bacterias y levaduras) (Olaya, 2006).

A través de la ciencia multidisciplinar llamada Aerobiología empezó el estudio del transporte de organismos y partículas de origen biológico presentes en el aire de ambientes internos y externos; que incluye la medicina, la física y la química, con el objetivo de conocer, el origen de los organismos, la liberación, la dispersión y la sedimentación sobre las superficies, la biodiversidad, concentraciones y puntos de distribución de las mismas, con el fin de buscar enfermedades que pueden ser transmitidas por el aire (Fernstrom & Goldblatt, 2013).

El aire está compuesto por microorganismos principalmente de bacterias y hongos. Las bacterias se encuentran ampliamente distribuidas en todo tipo de ambientes y se divide en dos grupos, las bacterias Gram negativas son las especies patógenas para el ser humano y las bacterias Gram positivas que son productoras de endósporas y actinomicetos (formas a menudo ramificadas y especies productoras de antibióticos). Por otra parte, los hongos poseen una distribución cosmopolita y poseen un amplio rango de hábitats, que incluyen ambientes extremos como los desiertos y áreas de extrema salinidad; los grupos fúngicos principales son: ascomicetos, basidiomicetos, zigomicetos, quitridiomicetos y deuteromicetos (Gárce & Saravía, 2008).

Uno de los mayores problemas del aire al interior es la carga de partículas biológicas como: hongos, bacterias, esporas, toxinas, virus, entre otras. Recientemente se ha incrementado el interés por la evaluación de la calidad microbiológica del aire al interior de las edificaciones, entre otras razones, porque los microorganismos además de contribuir al deterioro de infraestructuras y materiales, son agentes etiológicos productores de toxinas y sustancias volátiles, que en ocasiones causan enfermedades respiratorias, sistémicas y alergia (Olaya, 2006).

También las actividades antropocéntricas como hablar, estornudar, caminar, peinarse, entre otras, al parecer son el principal factor de dispersión de microorganismos, debido a que se crean aerosoles que facilitan su transporte. Elementos como alimentos, plantas, flores, polvo, textiles, cortinas, alfombras, mobiliario en mal estado, sobre todo de madera, promueven la contaminación



biológica del aire. Aparte, la humedad al interior, ya sea en el aire o en paredes y techos, es un factor que promueve la germinación de esporas y el albergue de hongos (Olaya, 2006).

Existen múltiples técnicas y procedimientos para mitigar los microorganismos patógenos presentes en el aire, como los monitores microbiológicos permiten determinar el contenido microbiano de áreas, superficies, personal, equipo y otros; mantener un control microbiológico ambiental es indispensable para asegurar la calidad de los productos elaborados y es un índice del estado higiénico del ambiente que rodea a las instalaciones, el cual se aplica para ambientes cerrados y limpios donde el número y variedad de microorganismos desarrollados deben ser bajos y pocos. Los ambientes de interiores no industriales como son edificios de oficinas, edificios públicos (colegios, universidades, lugares de ocios, restaurantes, etc.) y viviendas particulares deben presentar las condiciones ambientales adecuadas al usuario y la actividad (Ruiz & Garcia, 1999).

### 7.3. Marco legal

En la Tabla 1 se encuentra la normatividad referente a la calidad microbiológica del aire que sustenta esta investigación, Colombia a diferencia de otros países no cuenta con un marco legal amplio referente a este tema.

*Tabla 1. Normatividad*

<b>Norma</b>	<b>Descripción</b>
<b>Resolución 2400/1979</b>	El Ministerio de Trabajo y Seguridad Social y de Salud establece algunas disposiciones sobre vivienda, higiene y seguridad en los lugares de trabajo.

*Continuación Tabla 1. Normatividad*

<b>Norma</b>	<b>Descripción</b>
<b>I-SA-04/2015</b>	Control Microbiológico de Ambientes y Superficie, emitido por la Secretaría de Salud del Departamento del Meta.

*Nota: \*Descripción de las principales normas vigentes en el marco de calidad microbiológica del aire, Adaptado de información suministrada por el Ministerio de Ambiente.*

## 8. Metodología

### 8.1. Diseño de estudio

Los lineamientos metodológicos de la presente investigación comprenderán 3 etapas, los cuales se desarrollaron para el cumplimiento de los objetivos propuestos referente al estudio del análisis de riesgo microbiológico del aire de los laboratorios (Figura 1).

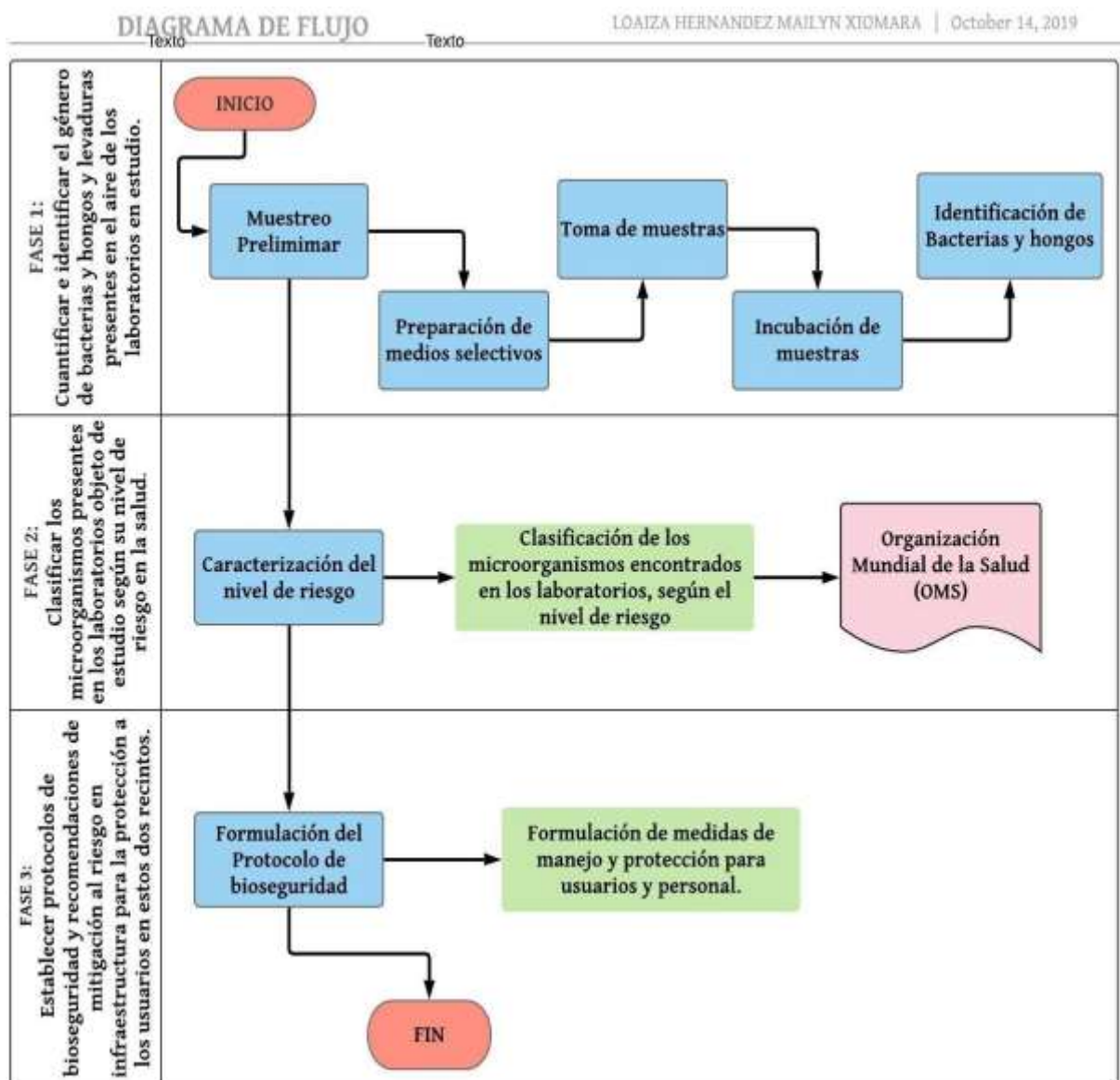


Figura 1. Diagrama de Flujo Metodológico. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019

## **8.2. Diseño experimental**

La investigación consistió en el análisis de riesgo microbiológico del aire de los laboratorios de Biología y Microbiología y de Toxicología y Biotecnología de la Universidad Santo Tomás campus Aguas Claras, donde utilizó el método de sedimentación por gravedad a partir de un muestreo aleatorio de los diferentes espacios de los laboratorios y a diferentes alturas, las muestras fueron sembradas en cajas de Petri y en medios selectivos identificando el género de los microorganismos recuperados (bacterias, hongos y levaduras), con el fin de identificarlos y asociarlos a posibles problemas en la salud de los usuarios que desempeñan actividades dentro de los laboratorios.

### **8.2.1. Fase 1: Cuantificar e identificar el género de bacterias y hongos y levaduras presentes en el aire de los laboratorios objeto de estudio.**

Los dos laboratorios que se van a muestrear, están delimitados en sus espacios como se muestra en los anexos 1 y 2, las cuales son información del proceso de montaje y adecuación de las zonas locativas de cada laboratorio.

#### **8.2.1.1. Actividad 1: Muestreo preliminar**

Para comenzar con el desarrollo de la toma de muestras; primero se llevó a cabo un muestreo preliminar en la primera semana del mes de marzo donde se recuperó con Agar nutritivo todos los microorganismos y se identificó los puntos críticos donde se presenta mayor población de estos, por lo tanto se plasmó una selección al azar de 20 puntos para el laboratorio de Biología y Microbiología y para el laboratorio de Toxicología y Biotecnología (Tabla 2).

Cada uno de los puntos tomados a diferentes alturas del nivel del suelo corresponde a los mesones de trabajo y área de balanzas (0.90m), equipos (1.80m) y muebles de almacenamiento o muebles colgantes (2m), los cuales fueron tomados durante dos días diferentes en la semana que se seleccionaron de acuerdo a los tiempos de trabajo de cada laboratorio; la primer toma se llevó a cabo el día martes 5 de marzo, durante actividades de investigación y trabajos de grado, la segunda toma se realizó el día viernes 8 de marzo, puesto que se realiza baja actividad de clase en los laboratorios. El tiempo de exposición del medio para la toma de las muestras fue de 15 minutos en la primera toma y 30 min para la segunda toma, debido a que los tiempos de exposición para

toma de muestras del aire por el método de sedimentación por gravedad en placas de Petri, no es adecuado realizarlo por debajo de los 15 min, ya que no garantizaría obtener una adecuada recolección de microorganismos presentes en el ambiente interno.

*Tabla 2. Puntos plasmados aleatorios para el estudio preliminar.*

<b>Laboratorio</b>	<b>Lugares de muestreo</b>	<b>Puntos aleatorios</b>
<b>Biología y Microbiología</b>	Mesón 1 (M1m)	4
	Mesón 2 (M2m)	4
	Mesón 3 (M3m)	2
	Mesón 4 (M4m)	2
	Balanzas (B)	2
	Incubadora Pequeña (IP)	1
	Cabina (C)	2
	Nevera (N)	1
	Incubadora Grande (IG)	2
<b>Toxicología y Biotecnología</b>	Mesón 1 (M1t)	3
	Gabinetes de provisión (Gp)	2
	Mesón 2 (M2t)	10
	Mesón 3 (M3t)	3
	Escritorio (Et)	2
<b>Total de puntos aleatorios</b>		<b>40</b>

*Nota: \*Número total de puntos aleatorios seleccionados de los laboratorios de Microbiología y Toxicología.*

#### **8.2.1.2. Actividad 2: Preparación de medios selectivos**

Los siguientes medios que se plasmaron para la identificación de microorganismos, fueron determinados debido a su efectivo y frecuente uso en laboratorios:

- El Agar nutritivo es un medio de cultivo que permite el crecimiento y el aumento de la población microbiana bacteriana. Para su preparación se utilizó 1700 ml de agua destilada y 66,3 gramos de Agar Nutritivo que fueron adicionados en el agua.

- El agar PDA es un medio usado para el aislamiento de hongos. Para preparar este medio, se utilizó 800 ml de agua destilada y 31,2 gramos de agar que posteriormente fueron agregados al agua destilada.
- Agar Eosina Azul de Metileno (EMB) (Eosin methylene blue agar), es un medio utilizado para el aislamiento selectivo de bacilos Gram negativos que poseen una característica especial, es su baja exigencia nutricional y su rápida multiplicación, este medio es específico para especies de la familia enterobacteriaceae; se utilizaron 800 ml de agua destilada y 30 gramos de agar para su preparación.
- Agar Mac Conkey es un medio de selección selectivo para microorganismos de la familia enterobacteriaceae, para este medio se adicionaron 41,2 gramos de agar en 800 ml de agua destilada y se mezclaron.
- Agar Sabouraud medio usado para el aislamiento de hongos, se adicionaron 52 gramos de agar en 800 ml de agua destilada.

Los anteriores medios descritos, fueron llevados a un agitador magnético con placa calefactora de marca VELP SCIENTIFICA hasta su ebullición y mezcla, terminada su ebullición, son llevados a la autoclave y luego es servido en las cajas de Petri.

### 8.2.1.3. Actividad 3: Toma de muestras

Se realizaron 4 réplicas por duplicado en cada punto, identificando cada punto según el muestreo preliminar realizado en la actividad 1 (Tabla 2), las fechas de la toma de muestras fueron organizadas de acuerdo con la cantidad de estudiantes y trabajos de tesis que apoya dichos laboratorios; el montaje del material se desarrolló según el inserto y las especificaciones de la casa matriz que produce el medio; en total se montaron 138 cajas (Tabla 3).

*Tabla 3. Total de cajas de Petri montadas para la toma de muestras.*

Medio	Total de cajas
Agar Nutritivo	42
PDA	24
Sabouraud	24

Tabla 3. Continuación

Medio	Total de cajas
EMB	24
Mac Conkey	24
<b>Total</b>	<b>138</b>

*Nota: \* Número total de cajas de Petri montadas entre el muestreo preliminar y toma de muestras principales.*

Posteriormente, se procedió con la toma de muestras, donde se ejecutó la toma a diferentes horas durante el desarrollo de actividades en los laboratorios, la primera en apoyo a proyectos de grado e investigación y la segunda en un día que hubo baja actividad de clase o práctica en los laboratorios, esto con el fin de poder observar los cambios que podrían presentarse en los tipos y la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC) de microorganismos de acuerdo con las condiciones generadas en cada laboratorio; no fue posible realizar la toma en horas de clase de laboratorios, debido que no fue permitido el ingreso a estos por parte de los docentes.

Las muestras de aire fueron capturadas por el método de muestreo aerobiológico: sedimentación por gravedad a diferentes alturas, la primera altura corresponde a 0.90m desde el nivel del suelo a los mesones de trabajo y área de balanzas del laboratorio de Biología y Microbiología, esta misma altura corresponde a los mesones del laboratorio de Toxicología y Biotecnología; la segunda de 1.80m refiere desde el nivel del suelo a los equipos del laboratorio de Microbiología y la altura de 2m corresponde del nivel del suelo hasta los muebles de almacenamiento de los dos laboratorios; el Agar EMB y Mac Conkey permitieron hacer la recuperación de bacterias entéricas y en cuanto al medio Sabouraud y PDA permitieron aislar hongos y levaduras en los diferentes puntos seleccionados de los laboratorios.

#### **8.2.1.4. Actividad 4: Incubación de las muestras**

Las muestras se incubaron a una temperatura de 28 - 35°C en una incubadora refrigerada de marca Thermo Scientific en un periodo de tiempo de 24 a 48 horas, en el transcurso de tiempo

entre la primera y segunda toma se realizó la primera lectura de los microorganismos y la segunda lectura cumplidas las 48 horas, se ejecutó la segunda toma de muestras.

#### **8.2.1.5. Actividad 5: Identificación de bacterias y hongos y levaduras**

En esta actividad se llevó a cabo la identificación de bacterias luego de hacer la descripción por medio de coloración de Gram como método base para la detección del tipo de microorganismo e identificación morfológica; luego se realizaron pruebas bioquímicas, utilizando 5 medios diferentes como referencia, los cuales cada uno determinaba una característica específica del microorganismo; SIM MEDIUM determinó la movilidad, producción de indol y de sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S); Caldo Urea es el medio por el cual se determinó la presencia de amoníaco; Lisina Hierro Agar (LIA) se utilizó para diferenciar microorganismos, especialmente *Salmonella* spp; Citrato de Simmons es un medio que identificó la fuente de carbono del microorganismo y el Medio MR-VP o Caldo Rojo de Metilo determinó la clasificación de las enterobacterias.

Para el aislamiento de hongos y levaduras se utilizaron los medios Sabouraud y PDA. Luego como método de detección y de reconocimiento morfológico se montaron las muestras en coloración simple con azul de Lactofenol y posteriormente se hizo uso de clave taxonómica para determinar y clasificar el tipo de hongo que se encontró (Clave taxonómica, 2014).

### **8.2.2. Fase 2. Clasificar los microorganismos presentes en los laboratorios objeto de estudio según su nivel de riesgo a la salud humana.**

#### **8.2.2.1. Actividad 1: Caracterización del nivel de riesgo**

En esta actividad se llevó a cabo la clasificación de los microorganismos encontrados en los laboratorios, según el nivel de riesgo en que estos se encuentran; los niveles de riesgo ya se encuentran estipulados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y se dividen en 4 niveles de riesgo biológico, donde el nivel 1 representa riesgo individual y poblacional escaso o nulo, el nivel 2 significa que se encuentra en riesgo individual moderado y riesgo poblacional bajo, el nivel 3 es riesgo individual elevado y riesgo comunitario moderado y por último, el nivel 4 simboliza riesgo individual y comunitario elevado (Organización Mundial de la Salud, 2005).

### **8.2.3. Fase 3. Establecer protocolo de bioseguridad y recomendaciones de mitigación al riesgo en infraestructura para la protección a los usuarios en estos dos recintos.**

#### **8.2.3.1. Actividad 1: Formulación de protocolo de bioseguridad**

Con la elaboración del protocolo de bioseguridad, se tuvo como propósito describir el nivel de riesgo biológico de los microorganismos potencialmente patógenos que se encuentran en los laboratorios de Biología y Microbiología y de Toxicología y Biotecnología, y a su vez, determinar el nivel de bioseguridad en que se encuentran estos recintos; sirviendo como guía para sensibilizar la comunidad tomasina con tal fin, de que conozcan toda la información en cuanto al manejo adecuado que se le debe dar a los laboratorios objeto de estudio.

Lo anterior se formuló teniendo en cuenta los protocolos de bioseguridad que ya están estipulados por la coordinación de laboratorios de la Universidad y otros protocolos como el de esterilidad, control de calidad de medios y las técnicas de asepsia correspondientes al uso de los diferentes implementos de protección personal.



## 9. Resultados y Análisis de Resultados

A continuación, se revelarán los resultados del estudio experimental sobre el análisis de riesgo microbiológico del aire en dos laboratorios de la Universidad Santo Tomás sede Villavicencio campus Aguas Claras a partir de la metodología desarrollada.

### 9.1. Fase 1: Cuantificar e identificar el género de bacterias y hongos y levaduras presentes en el aire de los laboratorios en estudio.

#### 9.1.1. Muestreo preliminar: conteo de UFC y determinación de puntos críticos

Para la recuperación de todos los microorganismos con Agar Nutritivo, se evidenció que en el laboratorio de Biología y Microbiología (hay mayor presencia de UFC en los puntos de los mesones (M1m y M2m), Balanzas (B), Cabina (C) e Incubadora Grande (IG) que en los puntos de los mesones (M3m y M4m), Incubadora Pequeña (IP) y Nevera (N). Por parte del laboratorio de Toxicología y Biotecnología se identificaron puntos con mayor presencia de microorganismos en el Mesón (M2t) y en los Gabinetes de provisión (Gp) ubicados en la parte de arriba del Mesón 1, que en los puntos de los mesones (M1t y M3t) y Escritorio (Et) (Tabla 4 y Tabla 5).

Tabla 4. Puntos de mayor población de microorganismos del laboratorio de Biología y Microbiología.

Laboratorio	Lugares de muestreo	UFC día 1 (05/03/2019)	UFC día 2 (08/03/2019)	Total de UFC por puntos seleccionados
Biología y Microbiología	Mesón 1 (M1m)	12	10	22
	Mesón 2 (M2m)	12	11	23
	Mesón 3 (M3m)	3	1	4
	Mesón 4 (M4m)	4	2	6
	Balanzas (B)	7	8	15
	Incubadora Pequeña (IP)	7	5	12

Tabla 4. Continuación

Laboratorio	Lugares de muestreo	UFC día 1 (05/03/2019)	UFC día 2 (08/03/2019)	Total de UFC por puntos seleccionados
<b>Biología y Microbiología</b>	Cabina (C)	6	8	14
	Nevera (N)	6	6	12
	Incubadora Grande (IG)	8	8	16
<b>Total de UFC</b>				<b>124</b>

Nota: \* UFC: Unidades Formadoras de Colonia, \* Puntos críticos de color rojo laboratorio de Biología y Microbiología.

Tabla 5. Puntos críticos de población microbiana del laboratorio de Toxicología y Biotecnología.

Laboratorio	Lugares de muestreo	UFC día 1	UFC día 2	Total de UFC por puntos seleccionados
<b>Toxicología y Biotecnología</b>	Mesón 1 (M1t)	2	3	5
	Gabinetes de provisión (Gp)	9	4	13
	Mesón 2 (M2t)	9	10	19
	Mesón 3 (M3t)	6	2	8
	Escritorio (Et)	4	5	9
<b>Total de UFC</b>				<b>54</b>

Nota: \* UFC: Unidades Formadoras de Colonia, \* Puntos críticos de color rojo laboratorio de Toxicología y Biotecnología.

En la Tabla 4 se evidencia que en el laboratorio de Biología y Microbiología se recuperaron 124 UFC, cantidad que es mayor a la del laboratorio de Toxicología y Biotecnología puesto que

la recuperación en este recinto fue de 54 UFC (Tabla 5); lo anterior, es debido a que en el laboratorio de Biología y Microbiología se realizan mayor número de actividades académicas, trabajos investigativos y de grado, que en el laboratorio de Toxicología y Biotecnología, influyendo de tal forma en la cantidad de UFC que se recuperaron. Además, los mayores recuentos de UFC obtenidos en los laboratorios, se subrayaron de color rojo, tomando los puntos como críticos.

### 9.1.2. Características microscópicas de las colonias recuperadas:

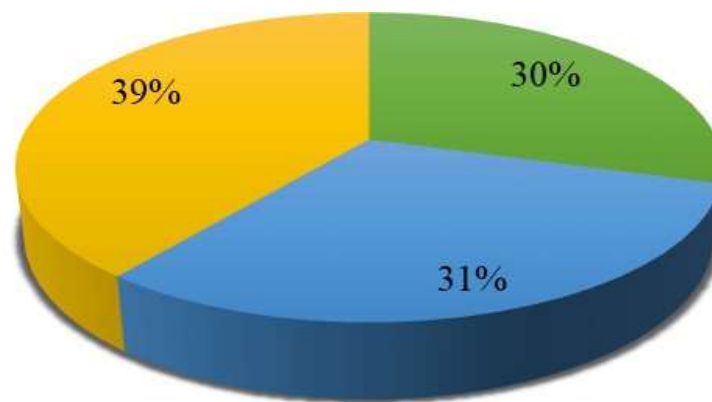
En la caracterización en cuanto a la morfología microscópica de las bacterias, se obtuvo un análisis general de los dos laboratorios hallando cocos Gram positivos, bacilos Gram positivos y bacilos Gram negativos (Tabla 6).

*Tabla 6. Morfología microscópica de las bacterias recuperadas en los laboratorios de Biología y Microbiología y de Toxicología y Biotecnología.*

Microorganismos	No. de bacterias encontradas
<i>Cocos Gram positivos</i>	18
<i>Bacilos Gram positivos</i>	19
<i>Bacilos Gram negativos</i>	24

*Nota: \* Número de bacterias presentes en las muestras tomadas del aire en los dos laboratorios objeto de estudio, incubación en anaerobiosis.*

Los resultados evidenciaron una mayor presencia de bacterias Gram positivas (37, entre cocos y bacilos Gram positivos) en comparación a las bacterias Gram negativas (24 de bacilos Gram negativos). La predominancia de las bacterias Gram positivas se puede deber a que estas bacterias sobreviven más tiempo en el aire de ambientes internos por la presencia de polvo que presentan.



■ Cocos Gram positivos ■ Bacilos Gram positivos ■ Bacilos Gram negativos

Figura 2. Frecuencia morfológica de las bacterias recuperadas en el aire de los laboratorios de Biología y Microbiología y Toxicología y Biotecnología. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.

Los resultados de la Figura 2 demostraron que los bacilos Gram negativos tienen mayor frecuencia de aparición (39%) puesto que estos se pueden encontrar en el agua, suelo y sobre la piel, además es debido al flujo de personas que realizan actividades en los laboratorios; el porcentaje de frecuencia de aparición de bacilos Gram positivos de 31% puede deberse a su capacidad de supervivencia en el aire en lugares internos y el 30% refiere a cocos Gram positivos ya que suelen estar presentes en ciertas partes del ser humano también.

Para la caracterización de las colonias de hongos hallados en los laboratorios objeto de estudio, se tuvo en cuenta detalles como su ciclo vital, es decir, al filo que presente el hongo y su morfología en cuanto a las hifas y micelios.

Los resultados obtenidos de la Figura 3, evidencian que los hongos Ascomycota tienen mayor frecuencia de aparición en los laboratorios objeto de estudio con respecto a los otros hongos aislados por su capacidad de reproducción tanto en ambientes terrestres como acuáticos. Los hongos Zygomycota presentaron un porcentaje de aparición considerable haciéndolo importante debido a su capacidad de extenderse en los ambientes. En cuanto al porcentaje restante de hongos, no fue posible su identificación, aunque se haya realizado un adecuado aislamiento de estos.

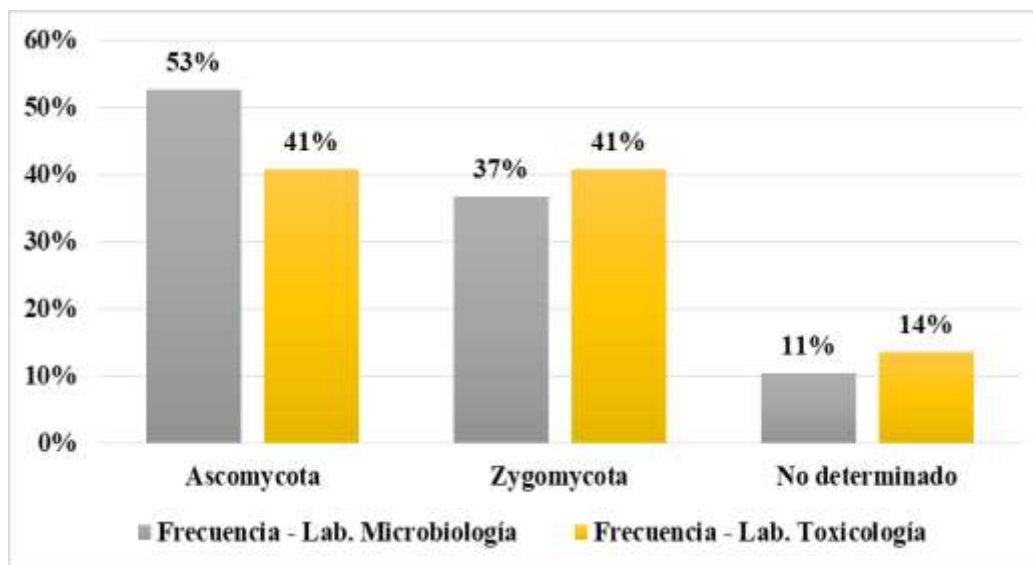


Figura 3. Frecuencia de las colonias de hongos recuperadas en cada laboratorio. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.

### 9.1.3. Identificación de bacterias mediante pruebas bioquímicas

Para la identificación del género bacteriano, fue indispensable la realización de pruebas bioquímicas o baterías de identificación; las pruebas que se corrieron son: Catalasa, Sim Medium (Indol, H<sub>2</sub>S y movilidad), Rojo Metilo, caldo Urea, Lisina y Citrato de Simmons. En general los laboratorios presentaron mayor presencia de bacterias Gram positivas como *Staphylococcus sp* y *Bacillus sp* que bacterias Gram negativas (Figura 4).

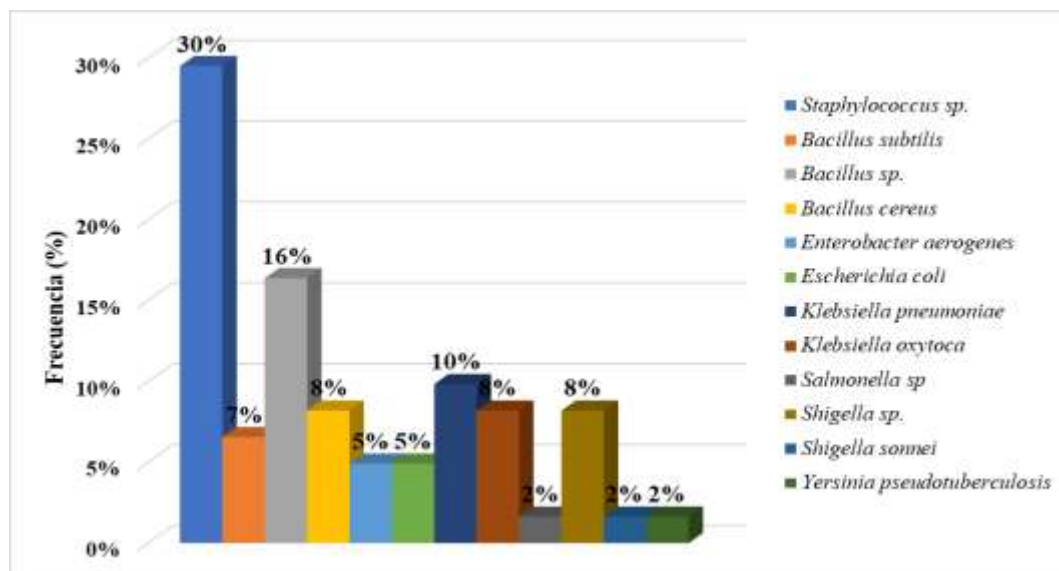
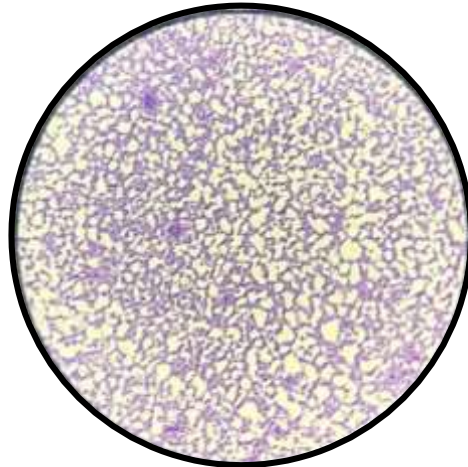


Figura 4. Porcentajes de frecuencia de géneros bacterianos. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.

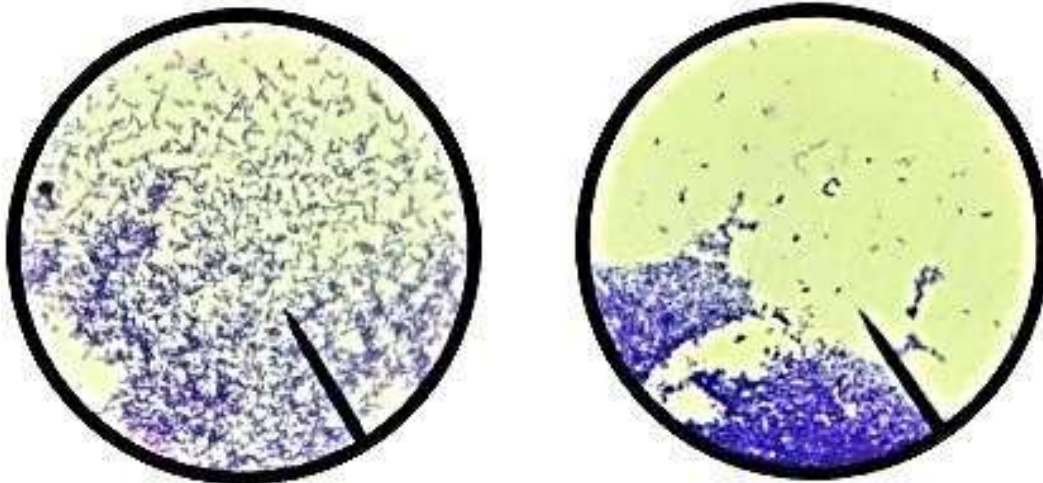
La bacteria Gram positiva *Staphylococcus sp* fue el microorganismo con mayor porcentaje de frecuencia (30%) debido a que se pueden encontrar comúnmente en el aire, agua, suelo y piel del ser humano; *Bacillus sp* y *Bacillus cereus* son otras bacterias identificadas por medio de las pruebas y tuvieron un alto porcentaje de aparición de 13% y 11% respectivamente, ya que se pueden hallar en el polvo, suelo y agua. La bacteria *Klebsiella pneumoniae* presentó un porcentaje de aparición del 10%, *Klebsiella oxytoca* y *Shigella sp* evidenciaron un 8% de aparición; *Bacillus subtilis* un 7%, *Enterobacter aerogenes* y *Escherichia coli* 5% y las bacterias *Salmonella sp*, *Shigella sonnei* y *Yersinia pseudotuberculosis* presenciaron un 2%.

Se determinó que la presencia del género *Staphylococcus sp* en los laboratorios objeto de estudio se debe a las diferentes actividades educativas que se realizan y al flujo continuo de personas. Se utilizó tinción de Gram para lograr observarlas microscópicamente (Figura 5) y pruebas bioquímicas para su adecuada identificación.



*Figura 5. Observación microscópica 100X del género Staphylococcus sp. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.*

En la Figura 6 y *Figura 7* se pueden observar los géneros de bacterias Gram positivas *Bacillus subtilis*, *Bacillus sp* y *Bacillus cereus*, es posible hallarlas en diferentes lugares debido a su capacidad de resistencia al ambiente, es un microorganismo que se adapta a cualquier medio, y convive con otros microorganismos en simbiosis.



*Figura 6. Observación microscópica en 100X del género Bacillus subtilis y Bacillus sp. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.*



Figura 7. Observación microscópica en 100X del género *Bacillus cereus*. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.

Tabla 7. Resultados de las pruebas bioquímicas.

Código muestra	Lisina	CITRATO SIM.	SIM MEDIUM			Ur	RM	Género identificado
			H2S	Ind	Mov			
1	+	-	-	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
6	+	-	-	+	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
Código muestra	Lisina	TRATO SIM.	SIM MEDIUM			Ur	RM	Género identificado
			H2S	Ind	Mov			
2	+	-	+	-	-	+	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
7	+	+	-	-	-	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
3	-	-	-	-	+	-	+	<i>Shigella sonnei</i>
4	+	+	-	+	-	-	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>
5	+	+	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>
12	-	-	-	-	-	-	-	<i>Shigella sp</i>



Tabla 7. Continuación

<b>17</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Shigella sp</i>
<b>15</b>	+	-	-	-	+	-	-	-	<i>Salmonella sp</i>
<b>21</b>	-	-	-	-	-	+	-	-	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>
<b>22</b>	-	-	-	-	+	-	-	-	<i>Enterobacter aerogenes</i>
<b>23</b>	-	+	-	-	-	+	-	-	<i>Enterobacter aerogenes</i>

*Nota: \* Identificación de géneros bacterianos Gram negativos de los dos laboratorios. \*Citrato de Simmons, \* Ind: Indol, \* Mov: movilidad, \* Ur: ureasa, \* RM: rojo metilo, \* +: positivo, \* -: negativo.*

Los géneros bacterianos identificados en la Tabla 7 son bacilos Gram negativos que fueron determinados por medio de pruebas bioquímicas gracias a sus características metabólicas, es decir, gracias a la capacidad que tienen los microorganismos de obtener la energía y los nutrientes para sobrevivir. Algunas pruebas arrojaron datos más rápido que otras, Ureasa es una prueba donde se identifica la producción de amoníaco del microorganismo y SIM por el cual la bacteria es capaz de degradar el amoníaco, liberar ácido sulfúrico y ser móvil o inmóvil, fueron las pruebas que arrojaron resultados en menos de 6 horas; rojo metilo el cual es un indicador de pH de las bacterias y citrato de Simmons que indica si el microorganismo tiene la capacidad de utilizar el citrato como fuente de carbono, requirieron más tiempo, aproximadamente 25 horas.

#### 9.1.4. Identificación de hongos mediante claves taxonómicas

En relación a la cantidad de hongos identificados en los laboratorios, se logró determinar que en el laboratorio de Toxicología y Biotecnología el género de mayor frecuencia de aparición fue *Rhizopus sp* con un 32%; el segundo género de mayor frecuencia de aparición es *Aspergillus sp* con un 23% y para el porcentaje restante de géneros encontrados para este laboratorio, se distribuye en *Cladosporium sp*, *Mucor sp*, *Penicillium sp* y otros hongos que no fue posible su identificación (Figura 8).

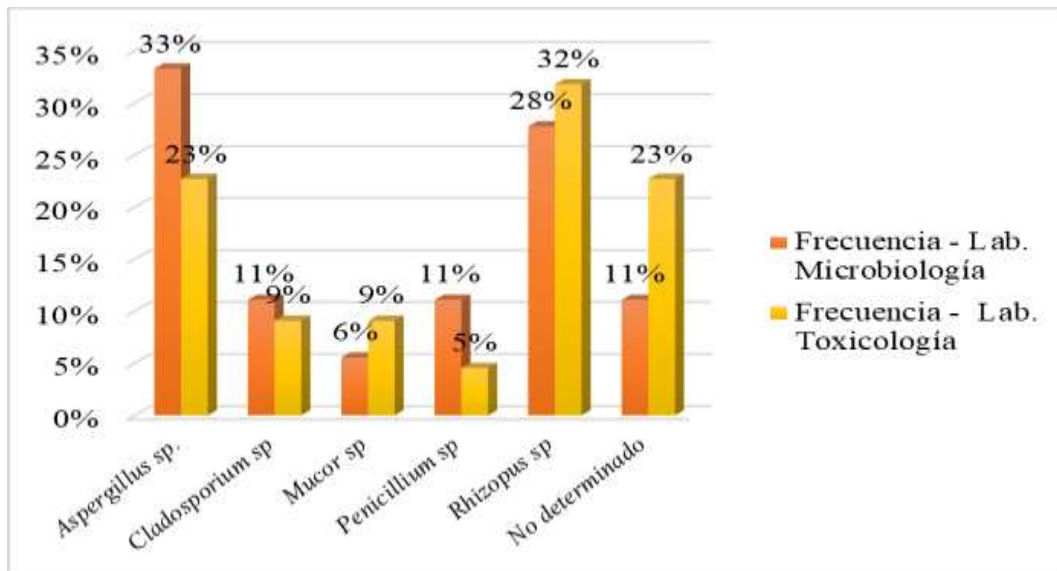


Figura 8. Porcentajes de frecuencia de géneros fúngicos. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.

Para el laboratorio de Biología y Microbiología, se logró evidenciar en la Figura 8 que los géneros de mayor frecuencia de aparición son *Aspergillus sp* y *Rhizopus sp* con 33% y 28% respectivamente, seguido de *Cladosporium sp*, *Penicillium sp* y otros géneros los cuales no fue posible su identificación con un 11% cada uno, ya por último el género de menor frecuencia de aparición en este laboratorio fue *Mucor sp* con un 6%.

En general, los resultados muestran que los géneros aislados con mayor frecuencia de reconocimiento en los dos laboratorios objeto de estudio fue *Rhizopus* y *Aspergillus*, a diferencia de *Cladosporium*, *Mucor* y *Penicillium* que presentaron menor proporción, debido a que estos frecuentan lugares diferentes a los laboratorios.

A continuación se muestra en la Figura 9 el género de hongos *Rhizopus sp* que se identificó microscópicamente, el cual presenta un esporangio esférico que se encuentra unido a una columela lisa y alargada; teñido de color azul debido a la Tinción de Azul de lactofenol utilizada para lograr una adecuada observación e identificación.

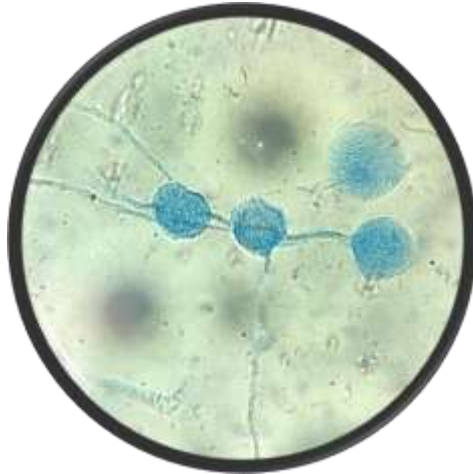


Figura 9. Observación microscópica con el objetivo 40x del género *Rhizopus sp*. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.

Se determinó que la presencia de *Aspergillus sp* en los laboratorios de la Universidad se debe a su fácil dispersión en el aire y a su capacidad de crecer a diferentes temperaturas. Además, este género contiene conidióforo largo, vesícula redonda y hialina (observar en la Figura 10).



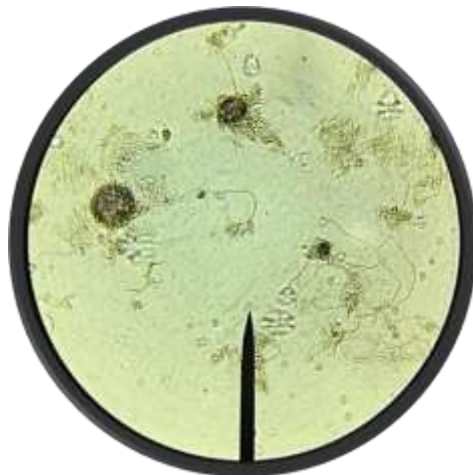
Figura 10. Observación microscópica en 40x del género *Aspergillus sp*. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.

En tercer lugar, se halló el género *Cladosporium sp*, que es un hongo exterior que se puede encontrar frecuentemente en el aire libre y a su vez tiene la capacidad de penetrar zonas internas. En la Figura 11 se logró observar un micelio septado de tonalidad oscura (café-verdoso) y cadenas ramificadas de conidios largos y cilíndricos de color café.



*Figura 11. Observación microscópica en 40x del género Cladosporium sp. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.*

*Mucor sp* se identificó microscópicamente y se caracterizó por la presencia de hifas cenocíticas con esporas largas, por lo general ramificadas y esporangios redondos terminales (Figura 12).



*Figura 12. Observación microscópica en 40x del género Mucor sp. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.*

El género *Penicillium sp* presenta una estructura en forma de pincel debido a que está conformado por conidióforos que poseen verticilos de ramificaciones y generalmente se presenta con una tonalidad azul (Figura 13).



Figura 13. Observación microscópica en 40x del género *Penicillium sp*. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.

**9.2. Fase 2. Clasificar los microorganismos presentes en los laboratorios objeto de estudio según su nivel de riesgo a la salud humana.**

Para determinar el nivel de bioseguridad de los laboratorios objeto de estudio, primero se determinó el nivel de riesgo microbiológico. La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomendó el establecimiento de una clasificación de los agentes biológicos, ubicándolos en cuatro grupos de riesgo que son enunciados en orden creciente, según el nivel de peligrosidad, además del riesgo que un agente puede representar para el individuo que trabaja con él y para la comunidad.

Tabla 8. Clasificación de agentes biológicos.

Agente biológico	Nivel de Riesgo
<i>Cladosporium sp</i>	Riesgo 2
<i>Mucor sp</i>	Riesgo 2
<i>Penicillium sp</i>	Riesgo 2

Tabla 8. Continuación .

<b>Agente biológico</b>	<b>Nivel de Riesgo</b>
<i>Aspergillus sp</i>	Riesgo 2
<i>Rhizopus sp</i>	Riesgo 2

Nota: \*Nivel de riesgo 2 individual moderado, riesgo poblacional bajo.

La Tabla 8 demuestra que los géneros fúngicos que se identificaron en los laboratorios objeto de estudio, se encuentran en nivel de riesgo 2, es decir, presentan un riesgo moderado para la salud de los usuarios que llevan a cabo diferentes actividades en los laboratorios y tienen poca probabilidad de generar enfermedad poblacional.

Tabla 9. Clasificación de géneros bacterianos según su nivel de riesgo.

<b>Bacteria</b>	<b>Nivel de Riesgo</b>
<i>Staphylococcus sp.</i>	Riesgo 2
<i>Bacillus subtilis</i>	Riesgo 2
<i>Bacillus sp.</i>	Riesgo 2
<i>Bacillus cereus</i>	Riesgo 2
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Riesgo 2
<i>Escherichia coli</i>	Riesgo 1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Riesgo 2
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Riesgo 2
<i>Salmonella sp</i>	Riesgo 2
<i>Shigella sp.</i>	Riesgo 2
<i>Shigella sonnei</i>	Riesgo 2
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Riesgo 2

Nota: \*Nivel de riesgo 2 individual moderado, riesgo poblacional bajo.

Los géneros bacterianos presentes en la Tabla 9 demostraron pertenecer al nivel de riesgo microbiológico 2, que tienen un riesgo moderado de afectar la salud de los seres humanos; a excepción del género *Escherichia coli* que se encuentra en nivel de riesgo 1 que presenta poca probabilidad de provocar enfermedades en el ser humano o los animales

GRUPO DE RIESGO	NIVEL DE BIOSEGURIDAD	TIPO DE LABORATORIO	PRÁCTICAS DE LABORATORIO	EQUIPO DE SEGURIDAD
1	Básico Nivel 1	Enseñanza básica, investigación	TMA	Ninguno; trabajo en mesa de laboratorio al descubierto
2	Básico Nivel 2	Servicios de atención primaria; diagnóstico, investigación	TMA y ropa protectora; señal de riesgo biológico	Trabajo en mesa al descubierto y CSB para posibles aerosoles
3	Contención Nivel 3	Diagnóstico especial, investigación	Prácticas de nivel 2 más ropa especial, acceso controlado y flujo direccional del aire	CSB además de otros medios de contención primaria para todas las actividades
4	Contención máxima Nivel 4	Unidades de patógenos peligrosos	Prácticas de nivel 3 más cámara de entrada con cierre hermético, salida con ducha y eliminación especial de residuos	CSB de clase III o trajes presurizados junto con CSB de clase II, autoclave de doble puerta (a través de la pared), aire filtrado

TMA: técnicas microbiológicas apropiadas (Véase la parte IV del presente manual). CSB: cámara de seguridad biológica.

.Figura 14. Relación de los grupos de riesgo con los niveles de bioseguridad de laboratorios.

Tomada de (Organización Mundial de la Salud, 2005).

Los laboratorios de Biología y Microbiología y de Toxicología y Biotecnología se localizan en el nivel de bioseguridad 2 según la Figura 14, debido a que las actividades de clase o prácticas de laboratorio que se realizan en estos, son de enseñanza e investigación, donde el manejo de agentes tiene un nivel moderado de peligrosidad en la salud de los usuarios.

### 9.3. Fase 3. Establecer protocolo de bioseguridad y recomendaciones de mitigación al riesgo en infraestructura para la protección a los usuarios en estos dos recintos.

#### 9.3.1. Formulación del protocolo de bioseguridad

La investigación tuvo como objetivo el desarrollo de técnicas para el protocolo de bioseguridad de

la Universidad Santo Tomás campus Aguas Claras, esta guía se realizó teniendo en cuenta el nivel de bioseguridad de los laboratorios objeto de estudio que se determinó que es de nivel 2 y del reglamento de bioseguridad ya existentes en la Coordinación de laboratorios; además está dirigida a toda la comunidad estudiantil, docentes, personal de laboratorios y de aseo, con el fin de fomentar buenas prácticas de laboratorio.

### **9.3.1.1.** Guía de manejo para muestras manipuladas con posibles agentes infecciosos.

Todo laboratorio que realice manipulación con agentes patógenos o infecciosos debe tener en cuenta ciertas medidas de manejo para evitar posibles afectaciones a la salud.

#### **9.3.1.1.1.** Seguridad del personal

Como primera medida, se debe tener en cuenta la seguridad del personal y usuarios de los laboratorios por medio de los elementos o artículos de protección personal, que son un complemento indispensable de los métodos de control de riesgo de exposición de la piel a material potencialmente patógeno. Los artículos son:

- **Uso de guantes**

Son los que reducen el riesgo de contaminación por fluidos en las manos, pero no evitan cortaduras ni pinchazos. Los guantes deben ser de látex de la talla adecuada en caso de usar la talla incorrecta favorece la ruptura del guante, si se presenta ruptura deben ser retirados, luego proceder al lavado de las manos y al cambio inmediato de estos.

Si el procedimiento a realizar es de riesgo alto, se debe utilizar doble guante. Por último, es importante tener en cuenta hacer cambio de guantes entre diferentes procedimientos o previo al contacto con sangre, fluidos corporales, secreciones, mucosas y materiales contaminantes y luego descartarlos al contenedor color rojo.

- **Protección ocular y tapaboca**

La protección ocular y el uso de tapabocas tienen como finalidad proteger ojos, nariz y boca durante las prácticas de laboratorio, las cuales puedan generar salpicaduras de algún contaminante.

El tapaboca debe ser de material impermeable, amplio para el adecuado cubriendo de la nariz y toda la mucosa bucal, deben ser utilizados durante toda la actividad de laboratorio; los lentes



deben ser amplios, los marcos de los cristales rígidos, resistentes a impactos, ajustados al rostro y con protecciones laterales para cumplir eficazmente la protección.

- Uso de gorro - cofia

El gorro se debe utilizar ya que sirve como una barrera protectora que evita que el cabello reserve posibles microorganismos contaminantes patógenos, por esta razón es necesario el uso del gorro dentro del laboratorio y el material tiene que ser desechable.

- Uso de protección corporal

La protección corporal es muy importante para proteger la piel de los reactivos, productos químicos o material biológico que se maneja en estos laboratorios, por esto se debe usar bata, zapatos cerrados, medias largas y pantalón largo, para evitar quemaduras o salpicaduras de material contaminado.

#### **9.3.1.1.2. Normas generales para uso de laboratorio**

Las prácticas de laboratorio o de clase básicas que se vayan a realizar en estos recintos, deben tener en cuenta:

- Primero, el docente y personal de laboratorio debe limitar el acceso de estudiantes que vayan a ingresar en la práctica o clase, siempre y cuando se tenga en cuenta la actividad a realizar.
- Segundo, el docente y estudiantes deben lavarse adecuadamente las manos antes del ingreso al laboratorio, luego de la manipulación de los elementos y equipos; de igual forma, al realizar cambio de guantes y al finalizar la actividad en los laboratorios.
- Tercero, todos los usuarios deben tener muy presente que no se permite el ingreso de alimentos y bebidas en los recintos, lo anterior debe ser almacenado fuera del lugar de trabajo; además no se permite fumar, ni realizar alguna manipulación con lentes de contacto.
- Cuarto, toda superficie de trabajo (mesones, área de balanzas y demás áreas perimetrales) debe ser limpiada por parte de las personas que van hacer uso de los laboratorios al inicio y final de cada actividad o cuando ocurra algún derrame de material de trabajo.
- Quinto, las actividades que involucren la manipulación de muestras biológicas, con agentes patógenos o cultivos, deben tener un proceso especial de descontaminación por medio de una autoclave al comenzar el manejo y de igual forma al finalizar.

- Sexto, la coordinación de laboratorios debe contar con un control especial de roedores e insectos.

Para el caso de prácticas de laboratorio especiales (trabajos de grado e investigaciones) se considera:

1. Cuando se realizan prácticas de laboratorio con agentes posiblemente infecciosos, el docente a cargo y personal de laboratorio, no deben permitir el ingreso de estudiantes u otras personas que se encuentre en mal estado de salud, con alguna ruptura o raspadura en la piel, ya que son personas que tienen mayor posibilidad de adquirir infecciones por la actividad.
2. Se deben estipular por parte del docente, guías de laboratorio que contengan el proceso de la practica a desarrollar con el fin de evitar alguna eventualidad por desconocimiento de la actividad y a su vez posibles infecciones o enfermedades.
3. La coordinación y el personal de laboratorios, tienen la obligación de informar mediante alguna señal de advertencia si se está realizando alguna actividad que implique la manipulación con agentes biológicos en los laboratorios.
4. El personal de laboratorios debe realizar periódicamente estudios y análisis a los laboratorios para asegurar una apta condición de estos.
5. Las personas que manipulen materiales cortopunzantes como agujas, jeringas, portaobjetos para microscopio, pipetas, tubos capilares y demás, deben tener alta precaución; no pueden ser manipulados sin el uso de guantes y se tienen que ser desechados en el correspondiente recipiente de residuos peligrosos, identificada de color rojo.
6. El personal de laboratorios debe ser informado inmediatamente que ocurra algún accidente o derrame de material que puede ser infeccioso, para que realicen el debido control y tratamiento que sea necesario.

#### **9.3.1.1.3. Descontaminación de materiales y equipos**

Para la realización de actividades en el laboratorio que implique tomar muestras, es importante tener en cuenta la descontaminación de los materiales y equipos a utilizar, esto con el fin de garantizar que las muestras no serán contaminadas con algún microorganismo externo a la investigación o actividad.

La descontaminación se realiza por medio de un proceso de esterilización, que consiste en la destrucción o eliminación de cualquier tipo de vida microbiana de los materiales a utilizar,

incluidas las esporas. Para este procedimiento se utiliza el método físico de esterilización con vapor de agua debido a que presenta rápido calentamiento y penetración, destrucción de bacterias y esporas en corto tiempo, no deja residuos tóxicos y hay bajo deterioro del material expuesto.

Se debe esterilizar los instrumentos que han entrado en contacto con material biológico o contaminante como tubos de ensayo, cajas de Petri, pipetas, vasos de precipitados, entre otros. Los pasos del proceso de esterilización son:

- Recepción.
- Limpieza.
- Secado.
- Empacado.
- Sellado.
- Identificación y rotulado.
- Esterilización
- Almacenamiento

#### **9.3.1.1.4. Manipulación y transporte de muestras**

Las muestras tomadas en campo tienen un manejo especial para su transporte y almacenamiento antes de llegar a los laboratorios.

Inicialmente, los envases primarios donde se encuentran las muestras tomadas deben ser muy bien sellados y rotulados; a su vez almacenados en contenedores o envases secundarios que se encuentren a temperaturas sobre los 25°C y lejos de la radiación solar.

Como segunda medida, las muestras deben ser transportadas lo más pronto posible a los laboratorios dentro de las 24 horas luego de obtenida la muestra, para que no ocurra alguna contaminación en estas o alteración en el análisis.

#### **9.3.1.1.5. Eliminación de muestras**

Todas las muestras con riesgo biológico como cultivos celulares y fluidos de desecho se descontaminarán antes de su eliminación a través procesos químicos, autoclave o incineración.

Los materiales contaminados se arrojarán a las canecas de color rojo que son las apropiadas para los residuos infecciosos, orgánicos, tóxicos o residuales, donde posteriormente serán depositados en contenedores apropiados para tal fin. Estos contenedores se cerrarán al ser trasladados fuera del laboratorio y a otras áreas. Todos los procedimientos técnicos se practicarán de manera que se reduzca al mínimo la formación de aerosoles y gotas.

## 10. Discusión

En la fase inicial de la investigación, los resultados del muestreo preliminar determinaron los puntos críticos donde se identificó que las superficies de trabajo (mesones) de los dos laboratorios objeto de estudio son los que presentan la mayor carga microbiana, puesto que en estos espacios fluyen frecuentemente estudiantes que realizan diferentes actividades como preparaciones de medios de cultivo, manipulación de productos químicos, manipulación de muestras biológicas, entre otras actividades más que desarrollan sin los apropiados elementos de protección personal al momento de la manipulación de los productos que utilizan y las operaciones que ejecutan con estos; asimismo, al no llevar a cabo también una adecuada limpieza que es requerida en estas superficies de trabajo al inicio y final de cada procedimiento ejecutado en las prácticas de laboratorio (Rojas, 2011).

Además, el punto de la Cabina (C) e Incubadora Grande (IG) del laboratorio de Microbiología y Biología presentaron 29 colonias, ya que estos equipos se encuentran cerca de una fuente de contaminación externa, es decir, una ventana que permite aumentar la cantidad y la propagación de partículas por la entrada de polvo o por la formación de corriente de aire, que al mismo tiempo impide que se efectúe una adecuada contención biológica de los microorganismos presentes en el recinto (Klaus Graf, 2009).

Por otra parte, resultó de gran importancia tener en cuenta la altura de los puntos donde se tomaron las muestras, debido a que los mayores recuentos de Unidades Formadoras de Colonias identificadas según la Tabla 4 son el mesón 1 y 2 del laboratorio de Microbiología y Biología y el mesón 2 del laboratorio de Toxicología y Biotecnología. Afirmando de esta forma lo dicho por De la Rosa *et al.* (2002) que el número de microorganismos presentes en el aire de un ambiente interior cambia según la altura, obteniendo la mayor frecuencia de estos en lugares cercanos al suelo debido al crecimiento y la diversidad microbiana, sobre todo en lugares con altura inferior a dos metros, que constituyen el microclima del hombre.

La caracterización general de la morfología microscópica de bacterias recuperadas en los dos laboratorios objeto de estudio, evidencia una mayor frecuencia de bacterias Gram positivas (61%) en comparación a las bacterias Gram negativas (39%); afirmando de tal forma lo dicho por Herrera

*et al.* (2012) que hay mayor presencia de bacterias Gram positivas que bacterias Gram negativas debido su delgada pared celular que les permite permanecer solo 10 minutos expuestas al ambiente.

Los cocos Gram positivos presentaron un porcentaje de aparición considerable de 30% y se debe a que estos microorganismos suelen encontrarse normalmente en ciertas partes de nuestro organismo, generalmente se asocian a la piel y las mucosas, por tanto, son resultado de la presencia de personas en ambientes internos. Adicionalmente, su presencia puede indicar deficiencias en los sistemas de ventilación del lugar (Soto et al., 2009).

En el caso de la caracterización microscópica general de las colonias de hongos hallados en los laboratorios objeto de estudio, se tuvo en cuenta detalles como su ciclo vital y su morfología. Los ciclos vitales que son muy definidos y se ubican en cuatro filos: Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota y Basidiomycota, y la identificación morfológica de estos hongos estuvo correlacionada con la presencia de hifas y micelios. Para el ciclo vital se obtuvo que los hongos se encuentran ubicados en el filo Ascomycota en mayor proporción para el laboratorio de Microbiología con 51% y el laboratorio de Toxicología con un 41%, lo cual se debe a que es un grupo que se encuentra en todo tipo de hábitat y puede presentar cualquier forma de nutrición. Los demás hongos pertenecen al filo Zygomycota con un porcentaje de aparición de 37% en el laboratorio de Microbiología y 41% en el laboratorio de Toxicología, lo cual representan el orden de los Mucorales como *Mucor sp* y *Rhizopus sp.* (Keret, 2014).

La identificación de géneros bacterianos por medio de pruebas bioquímicas arrojaron resultados (Tabla 7) que fueron confirmados por medio la tabla de resultados del estudio de Viabilidad y características culturales, tintoriales, morfológicas y bioquímicas de una colección bacteriana (Alfonso, Gonzalez, & Lopez, 2015).

Se hallaron bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas, de las cuales las Gram positivas que se hallaron en los laboratorios fueron: *Staphylococcus sp* en un 30% ya que están presentes comúnmente en el aire porque es uno de sus principales medio de transporte, el agua, la mucosa y la piel de los seres humanos, teniendo en cuenta que en los laboratorios hay constante flujo de personas y, además, su gruesa pared celular les permite resistir largos periodos de tiempo en condiciones ambientales normales; *Bacillus sp*, *B. subtilis* y *B. cereus* se caracterizan por encontrarse en el suelo, polvo, agua, vegetación y alimentos, fue posible encontrarlas en los laboratorios debido a las grandes concentraciones de polvo, en especial sobre los gabinetes de provisión donde se guardan materiales y elementos y sobre algunos equipos como neveras e

incubadoras, también se debe tener en cuenta que en estos laboratorios se realizan constantes actividades con muestras de suelo y agua (Herrera et al., 2015).

Los bacilos Gram negativos encontrados fueron: *Enterobacter aerogenes* (5%), *Escherichia coli* (5%), *Klebsiella pneumoniae* (10%), *Klebsiella oxytoca* (8%), *Salmonella sp* (2%), *Shigella sp* (8%), *Shigella sonnei* (2%) y *Yersinia pseudotuberculosis* (2%); bacterias que están tan dispersas en el ambiente y que se pueden encontrar constantemente en el agua, suelo, en los animales y algunas partes del cuerpo de los seres humanos. Su presencia en los laboratorios debe ser debido a algunas actividades de laboratorio donde hacen uso de materia fecal de animales para realizar pruebas piloto de Biodigestores, entre otras actividades más (Herrera et al., 2015).

En el desarrollo fúngico del laboratorio de Toxicología y Biotecnología se encontraron 22 géneros de hongos, donde el género de mayor frecuencia de aparición fue *Rhizopus sp* con 32%, seguido del género *Aspergillus sp* con 23%, *Cladosporium sp* y *Mucor sp* con 9% y *Penicillium sp* con 5%. Los resultados de la carga fúngica en este lugar se debe a la poca frecuencia de estudiantes, originando irregularidades en la periodicidad de la limpieza por parte del personal de aseo y la deficiente ventilación del lugar, puesto que solamente se hace uso del aire acondicionado en prácticas educativas; teniendo en cuenta lo anterior, se determinó que la acumulación de polvo que se genera en este lugar, es un factor determinante que influyó en el crecimiento de hongos en los medios selectivos (Herrera et al., 2015).

Para el laboratorio de Microbiología y Biología se recuperaron 18 hongos, lo cual corresponde el 33% al género *Aspergillus sp*, continuando con *Rhizopus sp* que presentó un 28%, *Cladosporium sp* y *Penicillium sp* con 11% y el género *Mucor sp* un 6% de aparición en el laboratorio. Esto es debido a la falta de cumplimiento de las normas de laboratorio por parte de los estudiantes, además de las actividades de aprendizaje realizadas en el lugar que están relacionadas con biología, microbiología básica y microbiología ambiental, y de la alta presencia de personas en este espacio reducido con aire artificial, demostrando de tal forma que estos factores son predisponentes para el incremento de la presencia de hongos en el lugar objeto de estudio (Carrillo & Páez, 2011).

El género *Rhizopus sp* es uno de los hongos más predominantes hablando en términos generales ya que su porcentaje sería del 60% (32% laboratorio de Toxicología y 28% laboratorio de Microbiología), esto es debido a su capacidad de adaptación y a que es un género contaminante común en laboratorios y el ambiente, son hongos de crecimiento rápido y resistentes a la desecación, congelación y a algunos compuestos químicos (Albornoz, 2014); por otra parte, estos

microorganismos obtienen lo que necesitan para su metabolismo de materiales muertos, materia orgánica o sustratos como madera, papel, pintura, suelo, polvo, piel y alimentos (Albright, 2001). El segundo género más abundante fue *Aspergillus sp*, el cual tuvo una aparición considerable en los dos laboratorios objeto de estudio de un 55% (33% laboratorio de Microbiología y 23% laboratorio de toxicología), lo que corrobora la investigación realizada por Álvarez, et al (2000), el cual realizó un estudio sobre la contaminación microbiológica y otros factores de riesgo relacionados con el desempeño en los laboratorios de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca en Santa fe Bogotá, donde el resultado de los diferentes hongos aislados en las muestras fue 90% del género *Aspergillus sp* y otros géneros como *Mucor sp*, *Penicillium sp*, *Cladosporium sp* y *Fusarium sp*.

La presencia de *Aspergillus sp* en los laboratorios de la Universidad se debe a la fácil dispersión de las esporas en el aire y a la capacidad de crecer a diferentes temperaturas sobre sustratos con diversos contenidos de humedad. Este es un género grande y se pueden encontrar en la mayoría de ambientes, ya que son hongos omnipresentes y oportunistas que viven como saprófitos en el suelo, vegetales en descomposición, cualquier tipo de materia orgánica, alimentos enlatados abiertos, ropa vieja, recipiente con aguas estancadas, reactivos químicos, paredes de refrigeradores y sistemas de ventilación (Samson, Varga, & Frisvad, 2011).

En tercer lugar se encuentra el género *Cladosporium sp* con un 20% (11% laboratorio de Microbiología y 9% laboratorio de Toxicología) a causa de que es un hongo exterior que se puede encontrar frecuentemente en el aire libre, a su vez este género fúngico también tiene la capacidad de penetrar zonas internas que presentan un ambiente húmedo y mal ventilado (Quan, 2012). Lo anteriormente descrito, coincide con Takahashi en 1997 quien publicó que el género *Cladosporium sp* se localiza sobre la tierra, el mar y el aire de ambientes internos o externos, aunque también es frecuente encontrar otros hongos, como *Aspergillus sp*, *Penicillium sp*, *Alternaria sp* y *Mucor sp*.

En cuanto a los géneros *Mucor sp* y *Penicillium sp* se identificaron en menor proporción en la investigación debido a que hongos como *Mucor sp* se encuentran frecuentemente en lugares como el suelo, plantas muertas, estiércol de caballo y frutas. Para el caso de *Penicillium sp* su presencia es difícil de reconocer dado que abarca un extenso número de especies y se hallan comúnmente en alimentos, pintura y pilas de compostaje. Además, Carrillo, (2003) menciona en su estudio que el género *Penicillium sp*, es considerado un contaminante habitual y puede causar daños materiales,

al ser humano y animal, lo cual puede explicar su aparición en el aire de los laboratorios de

### Microbiología y Toxicología.

Respecto a la relación entre los hongos identificados y las afecciones en la salud humana, se clasifiqué los géneros fúngicos por nivel de riesgo, ya que los hongos a través de sus esporas, micotoxinas y por la emisión de VOC (compuestos volátiles orgánicos), pueden causar diferentes tipos de enfermedades o alteraciones de la salud (Rivadeneira, 2012).

El género *Rhizopus sp* puede presentar manifestaciones de bronquitis y bronconeumonía. Por otra parte, la exposición a concentraciones elevadas de esporangiosporas de *Rhizopus* se ha descrito como causa de alveolitis alérgica extrínseca que se caracteriza por un proceso inflamatorio inmunológico con afectación pulmonar producida por inhalación de las esporas de este hongo. Se considera una enfermedad laboral y es una causa muy importante de incapacidad transitoria y permanente que se puede evitar (Peña Irún, García Pérez, & González Santamaría, 2011).

El género *Aspergillus sp* afecta a nivel de tracto respiratorio superior causando rinitis, desarrollo de procesos asmáticos, conjuntivitis o dermatitis; además, el pequeño tamaño de sus conidios, permite que sean aspirados y que puedan causar infección en el pulmón y en los senos paranasales (Molina, Valdés, Borrego, Pérez, & Castro, 2014).

El género *Cladosporium sp* tiene la capacidad de producir trastornos alérgicos en el hombre y produce sensibilidad, es ampliamente citado como productor de asma y esporosis, e incluso algunas de sus especies actúan como oportunistas y son capaces de atacar la piel produciendo cromoblastomicosis (Vidal & Anticona, 2013).

El género *Mucor sp* puede causar infección en los pulmones, los senos nasales, cerebro, ojos y la piel. A parte puede causar una infección conocida como la Mucormucosis que se inicia por la inhalación de esporas y puede presentar manifestaciones de bronquitis, bronconeumonía, embolia o cavitación pulmonar (Silva & Avilés, 2004).

El género *Penicillium sp* se le asocia con asma y rinitis, sin embargo, algunas especies de este género han sido reportadas como agente de penicilosis broncopulmonar, de infección del oído externo, neumonitis por hipersensibilidad, alveolitis alérgica en individuos susceptibles y se ha reportado como alergénico a nivel de piel (García, 2016).

Por otro lado, la relación de las bacterias identificadas con las afecciones a la salud, también fueron clasificadas según su nivel de riesgo, debido a su capacidad de esparcirse y sobrevivir en el ambiente.



El género *Staphylococcus sp* es un microorganismo patógeno muy importante, ya que las infecciones que se generan son agudas, piogénicas y superficiales, también se producen infecciones con menor frecuencia, infecciones profundas como osteomielitis, neumonía, endocarditis aguda e intoxicación alimentaria. Los mayores casos de infecciones son en personas inmunocomprometidas (Seija, 2006).

*Bacillus sp*, *Bacillus subtilis* y *Bacilos cereus* son géneros bacterianos asociados con reacciones alérgicas y en algunos casos con enfermedades o infecciones respiratorias como: neumonías, nasofaríngeas, entre otras (Seija, 2006).

La familia Enterobaceae está formada por bacilos y cocobacilos Gram negativos que producen diarrea relacionada con la ingestión de agua y alimentos contaminados con materia fecal, transmitiéndose de persona a persona por diferentes vías; También pueden producir peritonitis abscesos, meningitis, endocarditis, neumonías nosocomiales y otras enfermedades más. Los géneros de esta familia son: *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Shigella sp*, *Shigella sonnei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Salmonella sp* y *Yersinia pseudotuberculosis* (Herrera et al., 2015).

A partir de la información anterior sobre las afectaciones a la salud que causan los géneros fúngicos y bacterianos identificados, se clasificaron según los niveles de riesgo de agentes biológicos de la Organización Mundial de la Salud (2005), donde se determinó que los géneros fúngicos: *Aspergillus sp*, *Mucor sp*, *Rhizopus sp*, *Cladosporium sp* y *Penicillium sp*, y Bacterianos: *Staphylococcus sp*, *Bacillus sp*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Salmonella sp*, *Shigella sp*, *Shigella sonnei* y *Yersinia pseudotuberculosis*, se encuentran en el nivel de riesgo 2, debido a que estos microorganismos presentan un riesgo individual moderado y riesgo poblacional bajo, ya que tienen pocas probabilidades de entrañar un riesgo grave para el personal de laboratorio y la exposición de estos en el laboratorio pueden provocar infecciones graves a las personas, sin embargo existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces. Por otro lado, el género bacteriano *Escherichia coli* se categorizó por pertenecer al nivel de riesgo 1, puesto que este microorganismo tiene pocas probabilidades de provocar enfermedades en el ser humano o animales (Díaz, 2012).

Con los resultados obtenidos anteriormente se clasifico los laboratorios de Biología y Microbiología y de Toxicología y Biotecnología, como laboratorios básicos de nivel 2, debido a que son utilizados para procesos de enseñanza e investigación; además, se debe tener en cuenta

que en ellos es importante hacer uso de ropa protectora adecuada y técnicas microbiológicas apropiadas, para evitar algún contacto con agentes biológicos infecciosos que afectes la integridad de las personas (Organización Mundial de la Salud, 2005).

## 11. Conclusiones.

- Se identificaron 12 géneros bacterianos en los laboratorios de Biología y Microbiología y Toxicología y Biotecnología que son: *Staphylococcus sp*, *Bacillus sp*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Salmonella sp*, *Shigella sp*, *Shigella sonnei* y *Yersinia pseudotuberculosis*.
- Los géneros fúngicos que se obtuvieron con mayor frecuencia en los dos laboratorios objeto de estudio, en orden de predominancia son: *Rhizopus* (30%) y *Aspergillus* (27,5%). En cuanto a los géneros de hongos con menor predominancia fueron *Cladosporium* (10%), *Penicillium* (7,5%) y *Mucor* (7,5%).
- Los laboratorios de Biología y Microbiología y de Toxicología y Biotecnología se determinó que están clasificados en nivel de bioseguridad 2, debido a que son laboratorios básicos para procesos de aprendizaje relacionados con biología, microbiología básica y microbiología ambiental, además se realizan proyectos investigativos y de trabajos de grado; los cuales están en constante contacto y manipulación con agentes microbianos de riesgo moderado de generación de infecciones o enfermedades en los seres humanos.
- Se determinó que los factores que presentan influencia directa en la proliferación de bacterias y hongos es la cantidad de personal estable y de tránsito de los laboratorios, la periodicidad de limpieza y la deficiente ventilación.
- Los géneros fúngicos identificados se encuentran relacionados con afecciones a salud humanas en donde la exposición durante un tiempo prolongado a estos hongos puede contribuir a problemas alérgicos en las vías respiratorias como generar cierto tipo de dermatitis en la piel.
- El protocolo de bioseguridad pretende contribuir en la reducción de riesgos por el cual los docentes, alumnos y demás personal se encuentran expuestos durante sus diferentes actividades en el laboratorio a microorganismos potencialmente patógenos.
- Al tomar en cuenta la ruta de manejo para muestras que hace parte del protocolo, las buenas prácticas en laboratorio y a su vez el adecuado proceso de limpieza estipulado por la coordinación de laboratorios, ayudará a disminuir la carga microbiana presente en el aire y evitará alteraciones en la salud de los usuarios, por la deficiente calidad del aire.

## 12. Recomendaciones

- Se recomienda hacer uso de pruebas complementarias para poder garantizar la exactitud en la identificación de los microorganismos aislados (bacterias y hongos).
- Dado que el género *Rhizopus* y *Aspergillus* fueron identificados con elevados niveles en el ambiente de los laboratorios, es necesario continuar con el estudio de caracterización de las especies representadas dado que sus esporas tienen una reconocida implicación con diversas enfermedades de tipo alérgico e invasiva.
- Tomando en cuenta las referencias bibliográficas de enfermedades principalmente respiratorias, se debe prestar atención especial en los puntos muestreados con mayor cantidad de géneros fúngicos y realizar jornadas de limpieza, desinfección y esterilización de estas áreas críticas de manera frecuente, para no generar afectaciones a la salud a los usuarios de los laboratorios.
- Realizar cada semana, los días sábado una jornada de aseo en los laboratorios de una manera meticulosa, esto implica el movimiento de muebles, mesones, etc.
- La limpieza de mesones que son los lugares donde se presenta mayor parte del tiempo alto flujo de personas y manipulación de material biológico, necesita mayor atención por parte de las personas responsables de la limpieza, docentes y estudiantes, ya que se debe realizar la limpieza de forma periódica, al inicio y finalización de cada practica de laboratorio con hipoclorito de sodio.
- En el caso de los laboratorios que poseen climatización (aire acondicionado) se les recomienda darles mantenimiento continuo, para mantener un buen funcionamiento de los filtros de aire, y no poseer reservorios de microorganismos que los mantengan en recirculación en el aire interior, al momento de entrar y salir el aire de estos equipos.
  - Promover las medidas de bioseguridad que deben ser aplicadas en cada laboratorio a nivel administrativo, para contar con el apoyo necesario para las gestiones de mejoras en la infraestructura y readecuación de los laboratorios.

### 13. Referencias bibliográficas.

1. Albright, D. M. (2001). Human health effects of airborne mycotoxin exposure in fungi-contaminated indoor environments. *Professional Safety*, 46(11), 26. Retrieved from <https://search.proquest.com/docview/200431565>.
2. Alfonso, M., Gonzalez, N., & Lopez, N. (2015). Viabilidad y características culturales, tintoriales, morfológicas y bioquímicas de una colección bacteriana. *Revista Cubana De Medicina Militar*, 44(1), 105-111. Retrieved from <http://scielo.sld.cu/pdf/mil/v44n1/mil12115.pdf>.
3. Ariatti, a. (1993). *Aerobiología: Breve introducción histórica*.
4. Borowik, A., & Wyszowska, J. (2016). Soil moisture as a factor affecting the microbiological and biochemical activity of soil. *Plant, Soil and Environment*, 62(No. 6), 250-255. doi:10.17221/158/2016-PSE.
5. Carrillo, A., & Páez, S. (2011). Evaluación del efecto de la presencia de hongos en la calidad del aire como causa del síndrome del edificio enfermo en las edificaciones antiguas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Unpublished). doi:10.13140/RG.2.2.35210.11201 Retrieved from <https://search.datacite.org/works/10.13140/RG.2.2.35210.11201>.
6. Díaz, G. (2018). *Guía para trabajadores expuestos a riesgo biológico*
7. Díaz, K. (2012). *Manual de bioseguridad del INS*.
8. Fernstrom, A., & Goldblatt, M. (2013). Aerobiology and its role in the transmission of infectious diseases. *Journal of Pathogens*, 2013, 493960-13. doi:10.1155/2013/493960.
9. Garcés, A., & Saravia, K. (2008). *Morfología y estructura de los microorganismos*
10. García, C., Sáez, J., & Valdezate, S. (2010). *Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología*. España
11. García, G. (2016). *Presencia de hongos del género penicillium en los ambientes ambulatorios de dos centros de salud de la región Loreto*.
12. González, A. (2006). *Calidad bacteriológica en el aire del centro histórico de la ciudad de Guadalajara, Jalisco, México*. Retrieved from [http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5046/Nunez\\_Galaviz\\_Ana\\_Elizabeth.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5046/Nunez_Galaviz_Ana_Elizabeth.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

13. Herrera, K., Cobar, O., Barrios, R., Pierola, K., Chamale, W., Rosales, C., . . . Maas, J. (2015). Evaluación de la contaminación del aire por hongos microscópicos en dos colecciones biológicas y dos museos de la ciudad de Guatemala.
14. Herrera, K. (2009). Impacto de la calidad microbiológica del aire externo en el ambiente interno en la salud del personal de cuatro laboratorios de instituciones públicas en la ciudad de Guatemala y Bárcenas villa nueva.
15. Institución Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. (2014). Guía técnica para la evaluación y prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos.
16. Izquierdo, G. (2016). Calidad Microbiológica Ambiental del Aire en los Interiores del Hospital EsSALUD en Tingo Maria. PERÚ: Retrieved from <http://catalog.hathitrust.org/Record/007267377>.
17. Keret, E. (2014). Hongos. Nexos: Sociedad, Ciencia, Literatura, 36(439), 64.
18. Klaus Graf. (2009). Guía de seguridad y bioseguridad. Archivalia. Retrieved from <http://archivalia.hypotheses.org/21027>.
19. Méndez, C., Camacho, J., & Echeverry, S. (2015). Identificación de bacterias y hongos en el aire de Neiva, Colombia. *Revista De Salud Pública*, 17(5), 728-737. doi:10.15446/rsap.v17n5.38468.
20. Ministerio de Protección Social. (2008). La bioseguridad en el contexto de infraestructura de los laboratorios de salud pública. *Medicina*, 30(2), 72-81. Retrieved from <https://doaj.org/article/b9bead79d2124915ab4fd11af8829c3a>.
21. Molina, A., Valdés, O., Borrego, S., Pérez, D., & Castro, M. (2014). Diagnóstico micológico ambiental en depósitos de la oficina cubana de la propiedad industrial.21 (107-117).
22. Neyma García, Ismenia Araujo, Mayli Fernández, Willy Salcedo, Carmen Cárdenas, Janice Fernández, . . . Suher Yabroudi y Nancy Angulo. (2005). Calidad microbiológica y fisicoquímica del aire en tres laboratorios de la facultad de ingeniería de la universidad del Zulia.
23. Olaya, R. (2006). Caracterización cualitativa -cuantitativa de bioaerosoles relacionados con factores meteorológicos y material particulado en puente Aranda Bogotá D.C.
24. Organización Mundial de la Salud. (2005). Manual de bioseguridad en el laboratorio. Ginebra.
25. Pelczar, M. J., & Reid, R. D. (1966). *Microbiología* (1st ed.). México D.F.: Mc Graw Hill Interamericana Editores.

26. Peña Irún, Á, García Pérez, M., & González Santamaría, A. (2011). Alveolitis alérgica extrínseca: forma de presentación inicial como fiebre de origen desconocido. *SEMERGEN - Medicina de Familia*, 38(7), 456-459. doi:10.1016/j.semerg.2011.10.010 Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S1138359311004060>.

27. Pernilla, L. (2013). Universidad de san Carlos de Guatemala facultad de ciencias químicas y farmacia escuela de química biológica. Guatemala: Retrieved from [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\\_3504.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_3504.pdf).

28. Quan, J. (2012). Caracterización de cepas fúngicas aisladas del aire interior y exterior de dos laboratorios: LAMIR (laboratorio microbiológico de referencia), LAFYM (laboratorio de análisis físico químico y microbiológico) y AMSA (autoridad en el manejo sustentable del lago de amatitlán).

29. Rica, V. (2003). Aerobiología del polen alergénico y polinosis en Santander. relación de la agudización del asma bronquial con factores del ambiente exterior Universidad de Cantabria.

30. Rivadeneira, D. (2012). Evaluación microbiológica de la presencia de hongos en ambientes de la escuela de bioanálisis de la pontificia universidad católica del ecuador mediante la aspiración de volumen de aire en tiempo definido como una de las causas del síndrome del edificio enfermo durante el 2011.

31. Rojas, A. (2011). Conceptos y práctica de microbiología general.

32. Romero, C., Castañeda, D., & Acosta, G. (2016). Determinación de la calidad bacteriológica del aire en un laboratorio de microbiología en la universidad distrital francisco José de caldas en Bogotá, Colombia. *Nova*, 14(26), 101-137. doi:10.22490/24629448.1756

33. Rosa, M. C., Mosso, M. A., & Ullan, C. (2002). El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. *Observatorio Medioambiental*, 5, 375.

34. Ruiz, L., & García, M. (1999). Control de la calidad del ambiente interior (IEQ). Ventilación.

35. Ruiz, S., & Ríos, R. (2016). Evaluación de la calidad microbiológica ambiental en laboratorios de una universidad privada de Huancayo-Perú Retrieved from [https://search.credoreference.com/content/entry/marquisworld/franklin\\_roosevelt/0](https://search.credoreference.com/content/entry/marquisworld/franklin_roosevelt/0).

36. Samson, R., Varga, J., & Frisvad, J. (2011). Taxonomic studies on the genus aspergillus. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre. Retrieved from [http://bvbr.bib-bvb.de:8991/F?func=service&doc\\_library=BVB01&local\\_base=BVB01&doc\\_number=0245527](http://bvbr.bib-bvb.de:8991/F?func=service&doc_library=BVB01&local_base=BVB01&doc_number=0245527)

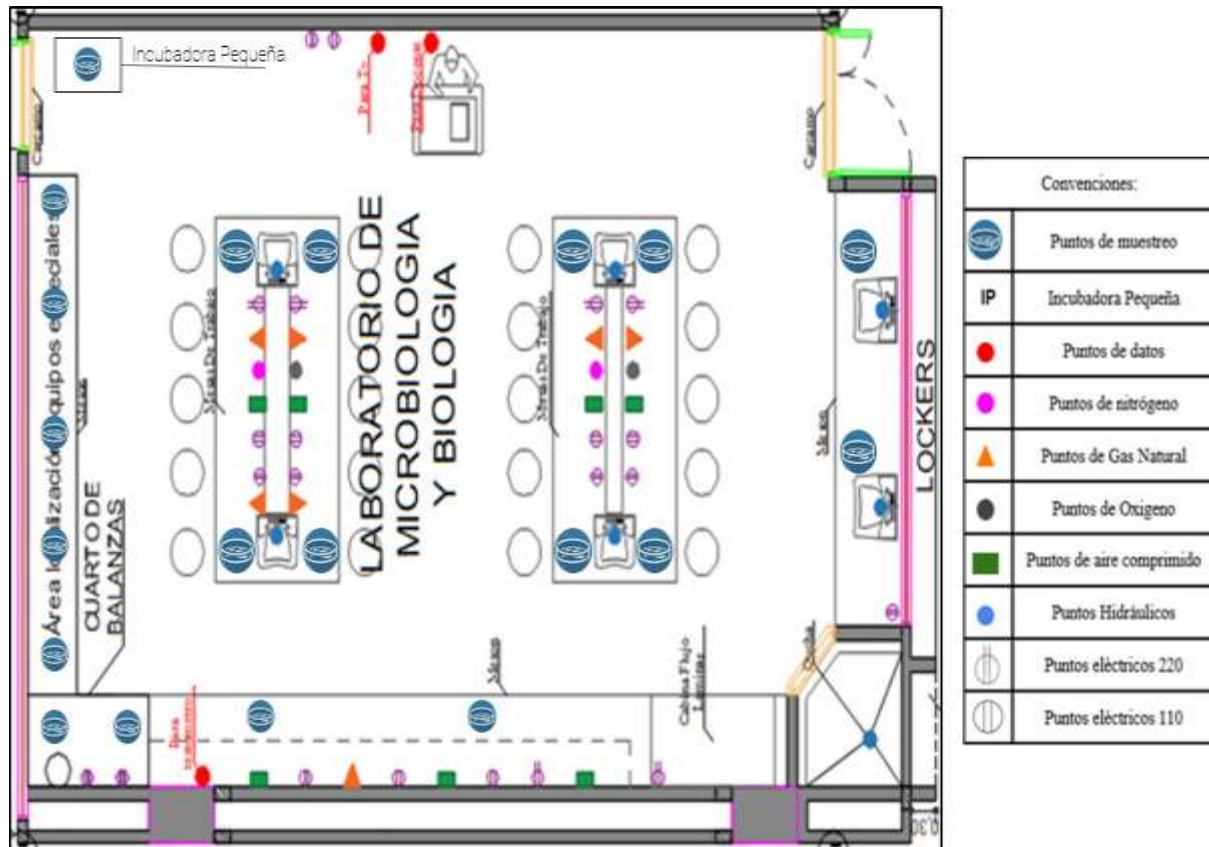
38&sequence=000002&line\_number=0001&func\_code=DB\_RECORDS&service\_type=MEDIA

- A.
37. Silva, P., & Avilés, C. (2004). Mucormicosis pulmonar. *Revista Chilena De Infectología*, 21(1), 61-64. doi: 10.4067/S0716-10182004000100009.
  38. Soto, T., García, R., Franco, A., Soler, J., Cansado, J., & Fernández, M. (2009). Indoor airborne microbial load in a Spanish university (university of Murcia, Spain). Retrieved from <http://hdl.handle.net/10201/17558>.
  39. Vidal, C., & Anticono, H. (2013). Estudio de la contaminación por la presencia de bacterias y hongos en la zona de lavado de las unidades recolectoras de residuos sólidos en la planta de transferencia de la empresa relima.



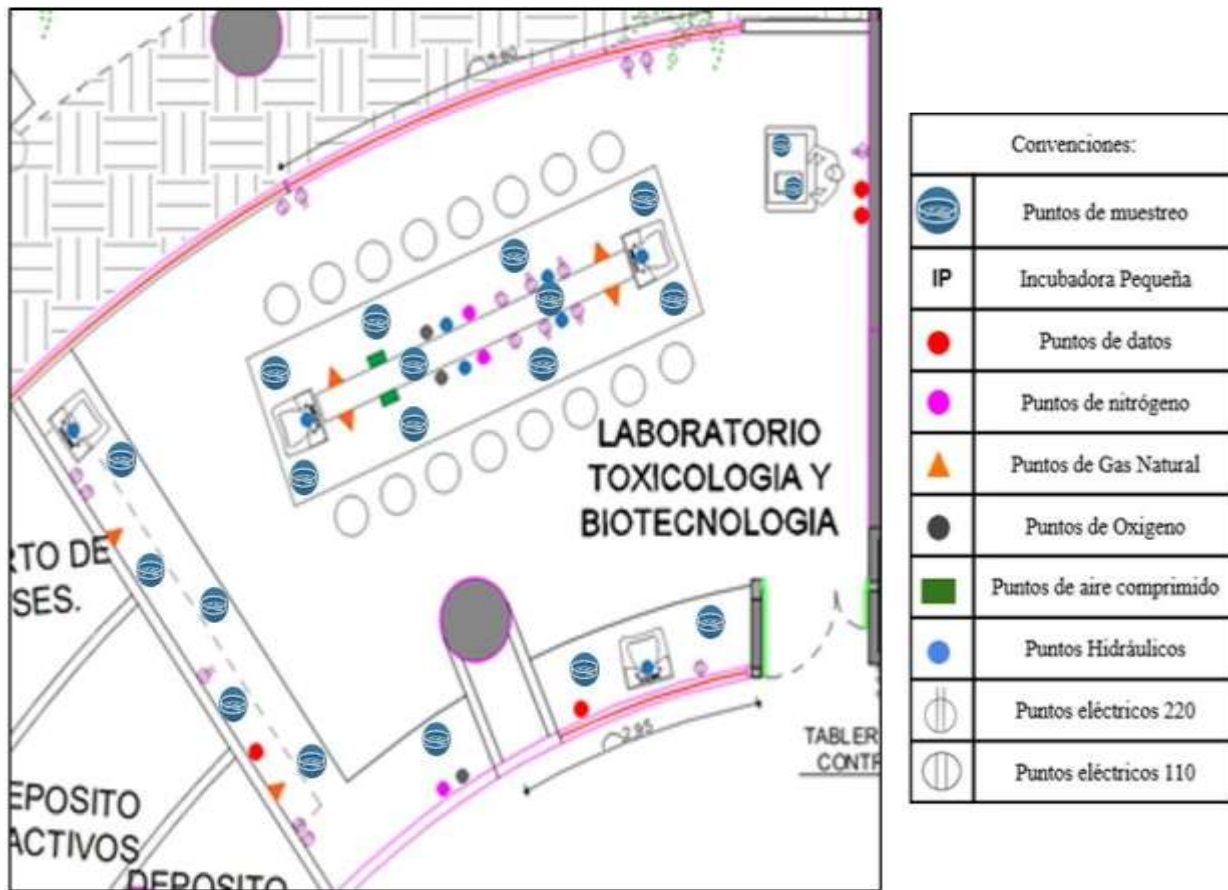
### 14. Anexos

*Anexo 1. Delimitación y proceso de montaje preliminar del laboratorio de Biología y Microbiología.*



*Figura 15. Plano delimitado del laboratorio de Biología y Microbiología. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.*

*Anexo 2. Delimitación y proceso de montaje preliminar del laboratorio de Toxicología y Biotecnología.*



*Figura 16. Plano delimitado del laboratorio de Toxicología y Biotecnología. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.*

*Anexo 3. Evidencia fotográfica del muestreo preliminar laboratorio de Biología y Microbiología.*



*Figura 17. Toma de muestras del muestreo preliminar. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.*

*Anexo 4. Evidencia fotográfica del muestreo preliminar para el laboratorio de Toxicología y Biotecnología.*



*Figura 18. Muestreo preliminar en el laboratorio de Toxicología y Biotecnología. Por Loaiza M & Ruiz T, 2019.*