



REPÚBLICA DEL ECUADOR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

**INFORME DE INVESTIGACIÓN
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:
MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA**

TEMA:

**Análisis de la calidad microbiológica del aire de las instalaciones del
servicio de laboratorio clínico de la Dirección Hospitalaria Guayaquil**

AUTORES:

**Willy R. Mazacón Solano
Mayra V. Zavala Panchana**

Director:

Msc. Juan D. Valenzuela Cobo

Milagro, 2024

Derechos de autor

Sr. Dr.

Fabricio Guevara Viejó

Rector de la Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Nosotros Willy Ramon Mazacon Solano y Mayra Verónica Zavala Panchana en calidad de autores y titulares de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedemos los derechos de autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de nuestro Grado, de Magister en Biotecnología, como aporte a la Línea de Investigación **innovación biotecnológica** de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedemos a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservamos a nuestro favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizamos a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Proyecto de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Los autores declaramos que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, 30 de enero del 2024



Firmado electrónicamente por:
**WILLY RAMON MAZACON
SOLANO**

Willy Ramon Mazacon Solano

CI. 1206449645



Firmado electrónicamente por:
**MAYRA VERONICA
ZAVALA PANCHANA**

Maya Verónica Zavala Panchana

CI. 0922868476

Aprobación del Director del Trabajo de Titulación

Yo, **Juan Diego Valenzuela Cobo** en mi calidad de director del trabajo de titulación, elaborado por Willy Ramon Mazacon Solano y Mayra Verónica Zavala Panchana cuyo tema ANALISIS DE LA CALIDAD MICROBIOLOGICA DEL AIRE DE LAS INSTALACIONES DEL SERVICIO DE LABORATORIO CLINICO DE LA DIRECCION HOSPITALARIA GUAYAQUIL es que aporta a la Línea de Investigación **Innovación biotecnológica**, previo a la obtención del Grado Magister en biotecnología. Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, **02 de abril del 2024**



Firmado electrónicamente por:
JUAN DIEGO
VALENZUELA COBOS

Atentamente,

VALENZUELA COBOS JUAN DIEGO, Msc.

C.I. 0927981670

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
DIRECCIÓN DE POSGRADO
CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA

El TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de **MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA**, presentado por **Q.F. MAZACON SOLANO WILLY RAMON**, otorga al presente proyecto de investigación denominado "ANÁLISIS DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AIRE DE LAS INSTALACIONES DEL SERVICIO DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA DIRECCIÓN HOSPITALARIA GUAYAQUIL.", las siguientes calificaciones:

TRABAJO ESCRITO	58.67
SUSTENTACIÓN	37.17
PROMEDIO	95.83
EQUIVALENTE	Muy Bueno



Mcmq HUILCAREMA ENRIQUEZ KEVIN XAVIER
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



Ing. SANCHEZ VASQUEZ VIVIANA LORENA
VOCAL



Msc GARCÉS MONCAYO MARÍA FERNANDA
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
DIRECCIÓN DE POSGRADO
CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA

El TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de **MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA**, presentado por **BQF. ZAVALA PANCHANA MAYRA VERONICA**, otorga al presente proyecto de investigación denominado "ANÁLISIS DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AIRE DE LAS INSTALACIONES DEL SERVICIO DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA DIRECCIÓN HOSPITALARIA GUAYAQUIL.", las siguientes calificaciones:

TRABAJO ESCRITO	58.67
SUSTENTACIÓN	36.50
PROMEDIO	95.17
EQUIVALENTE	Muy Bueno



Mcmq **HUILCAREMA ENRIQUEZ KEVIN XAVIER**
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



Ing. **SANCHEZ VASQUEZ VIVIANA LORENA**
VOCAL



Msc **GARCÉS MONCAYO MARÍA FERNANDA**
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL

Dedicatoria

El presente estudio para la correspondiente culminación de esta meta profesional propuesta se lo dedicamos a Dios, ya que ha sido nuestra guía espiritual y ser quien nos dio el don más maravilloso como es la vida y con ello levantarnos día a día a luchar por cumplir la meta que nos propusimos, a nuestros padres por ser parte fundamental en nuestras vidas y ser quienes nos impulsan para convertirnos en profesionales de bien, es por eso que a ellos le expresamos la mayor de nuestros agradecimientos y esta es una manera de retribuir el esfuerzo y sacrificio que nos brindaron en este camino llamado vida. Expresamos además los agradecimientos del caso a nuestros hermanos acompañarnos y estar siempre brindándonos el apoyo necesario para poder lograr alcanzar toda meta que nos hemos trazado impulsándonos día a día a ser mejores. A nuestros sobrinos ya que nos hemos convertido en el ejemplo e inspiración a seguir y para concluir dedicamos también este logro a nuestros amigos por el apoyo incondicional y alentarnos para alcanzar este maravilloso logro.

A todos ellos gracias infinitas porque sin ellos nada de esto sería posible.

Agradecimiento

Agradecemos la culminación del presente informe de investigación en primer lugar a Dios por que, gracias a él ha sido posible llegar hasta donde ahora nos encontramos, a nuestros padres, hermanos y sobrinos por el apoyo incondicional brindado en este largo camino llamado vida debido a que sus consejos y recomendaciones nos han permitido ser profesionales de bien.

Agradecemos además a nuestro Tutor por sus sabias enseñanzas en la elaboración del presente estudio, ya que precisamente su capacidad de enseñar es lo que conlleva a ser objeto de admiración y respeto lo que conllevó a impulsarnos para cumplir esta meta profesional.

Debemos expresar nuestros más sinceros agradecimientos por la apertura brindada los directivos de la Dirección Hospitalaria Guayaquil N^o.2 por su apoyo incondicional para poder recabar toda la información inherente al presente estudio, sé que es un orgullo contribuir en la mejora de los servicios de salud que esta unidad hospitalaria brinda a sus afiliados.

Y para concluir expreso mis más sinceros agradecimientos a la Universidad Estatal de Milagro por contribuir en mantener viva la llama del conocimiento perfeccionándonos como verdaderos profesionales de éxito.

Resumen

En el estudio de la biotecnología, se entiende que se vincula directamente con la aplicación o investigación científica de organismos, abarcando su estilo de vida, evolución e influencia en el entorno en el que prosperan.

A partir de este punto, surge la presente investigación que se centra en el análisis microbiológico del aire para determinar sus condiciones ambientales y calidad. Es fundamental destacar que las condiciones ambientales en un laboratorio de análisis microbiológico deben ser cuidadosamente planificadas y distribuidas con el objetivo de establecer un entorno seguro y altamente estéril o aséptico. Esto es especialmente crucial debido a que, en muchas ocasiones, la contaminación resultante de las tareas y responsabilidades asignadas al personal puede indicar la necesidad de desarrollar un programa de control de patógenos presentes en dicho entorno. De esta manera, se busca asegurar la seguridad en relación con los resultados obtenidos de las pruebas realizadas en los diversos ambientes de este departamento hospitalario.

Este estudio se destaca por ser de naturaleza observacional y se llevará a cabo mediante la recolección de diversas muestras de bioaerosoles, con el propósito de determinar cualitativamente su nivel de contaminación. Esto nos permitirá identificar bacterias y hongos que son típicamente contaminantes en entornos hospitalarios, específicamente en las instalaciones del Laboratorio de Análisis Clínico-Microbiológico de la Dirección Hospitalaria Guayaquil N.º 2. Es crucial subrayar que, para llevar a cabo esta evaluación microbiológica, es imperativo implementar un plan de control y monitoreo ambiental en una institución que ofrece servicios de salud.

Se empleó el método pasivo o de placa de sedimentación de Koch, utilizando medios de cultivo específicos para este tipo de investigaciones. Estos medios fueron expuestos al ambiente para llevar a cabo el análisis y recuento total de microorganismos por volumen de aire (UFC/m³), calculado mediante la fórmula de Omeliansky. El objetivo principal de este estudio es determinar no solo la cantidad de microorganismos presentes en el aire, sino también identificar su naturaleza. De esta manera, se busca correlacionar los resultados de estas mediciones con los estándares internacionalmente reconocidos.

Una vez que se recojan y cuantifiquen los hallazgos de esta investigación, será prioritario implementar una serie de medidas correctivas y preventivas. Estas acciones tienen como objetivo reducir la concentración de microorganismos, con la finalidad de prevenir la aparición de infecciones consideradas nosocomiales y transmitidas a través del ambiente.

Palabras claves: Asepsia, contaminación, monitoreo, muestreo, patógenos.

Abstract

In the study of biotechnology, it is understood to be directly linked to the scientific application or research of organisms, encompassing their lifestyle, evolution, and influence on the environment in which they thrive.

From this point, the present research arises, which focuses on the microbiological analysis of air to determine its environmental conditions and quality. It is essential to highlight that the environmental conditions in a microbiological analysis laboratory must be carefully planned and distributed with the objective of establishing a safe and highly sterile or aseptic environment. This is especially crucial because, in many cases, contamination resulting from the tasks and responsibilities assigned to personnel may indicate the need to develop a program to control pathogens present in said environment. In this way, we seek to ensure safety in relation to the results obtained from the tests carried out in the various environments of this hospital department.

This study stands out for being observational in nature and will be carried out by collecting various bioaerosol samples, with the purpose of qualitatively determining their level of contamination. This will allow us to identify bacteria and fungi that are typically contaminants in hospital environments, specifically in the facilities of the Clinical-Microbiological Analysis Laboratory of the Guayaquil Hospital Directorate No. 2. It is crucial to emphasize that, to carry out this microbiological evaluation, it is imperative to implement an environmental control and monitoring plan in an institution that offers health services.

The passive or Koch sedimentation plate method was used, using specific culture media for this type of research. These media were exposed to the environment to carry out the analysis and total count of microorganisms per volume of air (CFU/m³), calculated using the Omeliansky formula. The main objective of this study is to determine not only the number of microorganisms present in the air, but also to identify their nature. In this way, we seek to correlate the results of these measurements with internationally recognized standards.

Once the findings of this investigation are collected and quantified, it will be a priority to implement a series of corrective and preventive measures. These actions aim to reduce the concentration of microorganisms, with the aim of preventing the appearance of infections considered nosocomial and transmitted through the environment.

Keywords: Asepsis, contamination, monitoring, sampling, pathogens.

Índice

Derechos de autor	i
Aprobación del Director del Trabajo de Titulación	ii
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Resumen	vii
Abstract	viii
Índice	ix
Introducción	1
CAPITULO I: El problema de la investigación	3
1.1 Planteamiento del Problema	3
1.2 Delimitación del problema	5
1.3 Formulación del problema	6
1.4 Pregunta de investigación	6
1.5 Objetivo general	6
1.6 Objetivos específicos	6
1.7 Hipótesis	7
1.8 Declaración de las variables (operacionalización)	7
1.9 Justificación	9
CAPITULO II: Marco teórico referencial	12
2.1 Contaminación y calidad de aire intramural	12
2.2 Microorganismos en el aire	13
2.3 Tipos de microorganismos en el aire	13
2.4 Número y distribución de microorganismos	14

2.5 Permanencia y supervivencia.....	15
2.6 Flora normal de los seres humanos.....	16
2.7 Flora transitoria.....	16
2.8 Efecto de las infecciones nosocomiales.....	16
2.9 Factores influyentes en la manifestación de las infecciones nosocomiales.....	16
2.10 El agente microbiano.....	17
2.11 Adaptación bacteriana.....	17
2.12 Ventilación en los hospitales.....	18
2.13 Salud del huésped.....	19
2.14 La calidad del aire interior IAQ (Indoor Air Quality).....	19
2.15 Salud y Bienestar.....	20
2.16 La “nube microbiana” humana en el ambiente.....	20
2.17 La micro aeroflora, bioaerosoles y sus efectos biológicos.....	21
2.18 Fuentes comunes de bioaerosoles.....	22
2.19 Los bioaerosoles en el entorno hospitalario.....	22
2.20 El desafío de la supervivencia microbiana en el aire.....	24
2.21 Robert Heinrich Hermann Koch.....	26
2.22 El método o técnica de sedimentación de Koch.....	27
2.23 Vasily Leonidovich Omeliansky (В.Л. Омелянского).....	29
Capítulo III: Marco metodológico.....	37
3.1 Tipo y diseño de investigación.....	37
3.2 La población y la muestra.....	39
3.2.1 Características de la población.....	39
3.2.2 Delimitación de la población.....	39
3.2.3 Tipo de muestra.....	40

3.2.4 Tamaño de la muestra.....	40
3.2.5 Proceso de selección de la muestra.....	41
3.2.6 Los métodos y las técnicas.....	42
3.2.7 Procesamiento estadístico de la información.....	44
CAPÍTULO IV: Análisis e interpretación de resultados	46
4.1 Análisis de los resultados.....	46
4.2 Interpretación de los resultados	52
CAPÍTULO V: Conclusiones y Recomendaciones	57
5.1 Conclusiones.....	57
5.2 Recomendaciones	59
Bibliografía	60
ANEXOS	69

Índice de tablas

Tabla 1 Documentos de normas ISO para salas blancas.....	31
Tabla 2 Categorías de limpieza en el aire para las salas blancas y zonas limpias, ISO 14644.....	32
Tabla 3 Clasificación de sala limpia de acuerdo con la Norma Federal 209.....	33
Tabla 4 Clasificación de salas limpias y dispositivos de aire limpio según GMP EU.....	34
Tabla 5 Equivalencias ISO 14644-1, grado GMP y Estándar Federal 209.....	34
Tabla 6 Límites microbiológicos recomendados según la EU GMP Anexo 1. ^a	35
Tabla 7 Tasas de recuperación de contaminación inicial sugeridas en entornos asépticos.....	36
Tabla 8 Número de UFC de bacterias obtenidas en cada día de muestreo por habitación.....	46
Tabla 9 Número de UFC de hongos obtenidas en cada día de muestreo por habitación.....	47
Tabla 10 Número de microorganismos totales expresados en UFC / 4 horas o UFC / plato.....	47
Tabla 11 Cálculo del número de bacterias y hongos por m ³ según la regla de V.L Omeliansky.....	48
Tabla 12 Número total microbiano o recuento microbiano total de UFC por m ³ de aire	49
Tabla 13 Tasa de incidencia de contaminación microbiana.....	50
Tabla 14 Microorganismos identificados en el laboratorio clínico microbiológico.....	51

Índice de figuras

Figura 1 *Observación macroscópica de UFC de bacterias y hongos recolectados.....* 51

Introducción

La biotecnología se describe como la aplicación científica y tecnológica dirigida a organismos vivos, sus componentes, productos y modelos, con el propósito de alterar organismos vivos y/o materiales, con aplicaciones en la generación de conocimientos, bienes y servicios. Esta tecnología se fundamenta en un conjunto de principios científicos y técnicos generales, acompañados por una extensa lista de especificidades técnicas que se aplican a desarrollos particulares.

Del mismo modo, en la actualidad, los laboratorios, ya sean clínicos o microbiológicos, representan espacios destinados a la ejecución de labores prácticas por parte de profesionales. En el contexto de nuestro estudio, nos enfocaremos en el Laboratorio de Análisis Clínico-Microbiológico del Hospital de la Policía Guayaquil N.º 2. Su relevancia a nivel territorial lo ha posicionado como un referente nacional en la atención a pacientes, destacándose por su papel fundamental en la detección de microorganismos responsables de infecciones asociadas a la atención médica; estos casos emblemáticos tienen una considerable importancia desde el punto de vista científico.

Es crucial destacar que, en las condiciones ambientales de un laboratorio clínico, se debe poner especial énfasis en garantizar la calidad microbiológica del entorno. Esto se debe a que, en conformidad con las normativas de calidad, estas instalaciones deben estar diseñadas para ofrecer un ambiente seguro y condiciones de asepsia (Hayleeyesus & Manaye, 2014).

En ocasiones, la contaminación en departamentos que deberían cumplir con estrictas normas de asepsia se origina por las funciones realizadas en estos lugares. Al realizar un análisis detallado de estas funciones, se comprende la necesidad de establecer y contribuir a rigurosos mecanismos de control de patógenos presentes en el entorno hospitalario. Estos controles son esenciales para prevenir contaminaciones cruzadas, no solo en el ambiente, sino también en las muestras procesadas en el laboratorio, evitando así resultados incorrectos o falsos positivos (Brusina, Chezganova, & Drozdova, 2020).

La evaluación de la calidad del aire se realiza al determinar la cantidad total de microorganismos presentes en él. Aunque este recuento global de gérmenes en el aire es bastante abarcador, proporciona una comprensión de las condiciones sanitarias de una habitación, las cuales impactan en la propagación de infecciones transmitidas por el aire (Cernei, Maxim, Mavru, & Indrei, 2013).

La finalidad de esta investigación es analizar la concentración de microorganismos en el entorno aéreo y comparar los resultados obtenidos con los estándares aceptados según las normativas internacionalmente reconocidas. De este modo, se busca determinar el grado o nivel de contaminación microbiana en el aire y identificar los microorganismos aislados.

CAPITULO I: El problema de la investigación

1.1 Planteamiento del Problema

El término "microorganismos" engloba diversos agentes infecciosos como bacterias, virus, hongos, entre otros, que no son perceptibles a simple vista. Estas entidades se encuentran en el entorno y pueden ser responsables de numerosas enfermedades humanas, algunas de las cuales tienen consecuencias irreversibles e incluso mortales. Evaluar el grado de contaminación microbiológica se considera una práctica fundamental para mantener la seguridad y la asepsia, requisitos que están establecidos en diversas normativas de calidad. Además, es crucial identificar organismos que podrían ser patógenos para los seres humanos, especialmente en lugares que deben cumplir con niveles estrictos y rigurosos de esterilidad, como los laboratorios de análisis clínicos-microbiológicos hospitalarios.

La Organización Mundial de la Salud advierte que la seguridad, especialmente en lo que respecta a la bioseguridad, es una preocupación importante en los centros de atención médica (Ministerio de Salud Pública - MSP, 2018). A nivel global, el Manual de Bioseguridad en Laboratorios insta a los países a mantener, supervisar y controlar niveles adecuados de bioseguridad en estos entornos. Esto se debe a que muchos microorganismos pueden subsistir e incluso proliferar en el aire de los laboratorios, lo que podría resultar en posibles contaminaciones no solo de las muestras procesadas en estos laboratorios, sino también de los pacientes que acuden diariamente en busca de servicios médicos.

De esta manera, es posible comprender que las personas y las muestras utilizadas en el proceso de cada estudio o análisis, como la sangre, heces, esputo, orina, entre otros, podrían representar potenciales fuentes de contaminación. Por esta razón, surge la necesidad actual de unir esfuerzos entre diversos organismos de control de la salud para implementar procedimientos de laboratorio que se centren en prevenir o reducir los

niveles de infecciones nosocomiales; en la actualidad, este enfoque se ha convertido en una prioridad en términos de seguridad y calidad.

Es fundamental subrayar que, en estos entornos, los microorganismos pueden diseminarse a través de materiales e incluso debido a una manipulación inadecuada de las muestras que se analizan en ellos. Identificar posibles patógenos en este tipo de ambientes y tratar de mantener niveles aceptables de asepsia de acuerdo con estándares internacionales se convierte en un verdadero desafío. Esto es aún más crítico dado que la demanda de estos servicios se considera una de las más frecuentes en comparación con otros servicios de salud.

De este modo, podemos identificar la problemática en nuestro actual estudio, el cual respalda la importancia de llevar a cabo análisis microbianos de manera constante en el aire de los entornos de laboratorio en los centros de salud, ya sean de carácter público o privado. Es relevante destacar que estos ambientes pueden presentar diversos riesgos o amenazas biológicas, específicamente factores biológicos que pueden provocar o contribuir a problemas de salud, especialmente en pacientes, personal médico y trabajadores de laboratorio. Por ende, surge la necesidad de supervisar estos aspectos, especialmente dado que en estos lugares se lleva a cabo la detección e identificación de microorganismos. Una vez completados estos pasos esenciales, se buscará prevenir contagios entre los diferentes usuarios y proponer estrategias que contribuyan a evitar y reducir al máximo estos riesgos.

En este estudio actual, se examinó el grado de contaminación microbiana presente en el laboratorio de la Dirección Hospitalaria Guayaquil, con el objetivo de identificar y cuantificar la presencia de microorganismos en este entorno. Se busca determinar si bacterias, hongos o virus transmitidos por el aire en los laboratorios podrían estar vinculados, incluso, con enfermedades nosocomiales. Para llevar a cabo este estudio de manera adecuada, se emplearon métodos básicos, descriptivos y cualitativos, lo que resultó en la identificación de numerosas bacterias, incluyendo patógenos y otros géneros bacterianos no patógenos.

Basándonos en estudios comparativos realizados en otros países de Latinoamérica, hemos recopilado información que servirá como fundamento para nuestro análisis sobre cómo muchos de estos microorganismos podrían llevar, en algunos casos, al cierre o clausura de centros de salud a gran escala. Entre los microorganismos que buscamos identificar, se pueden distinguir dos formas principales, aunque con notables diferencias: bacterias, tanto cocos como bacilos, se destacan como los principales agentes causantes de enfermedades específicas en seres humanos, como conjuntivitis, dermatitis, linfadenitis, amigdalitis y neumonías, especialmente aquellas de origen diarreico e infecciones respiratorias, incluyendo las pulmonares. En este sentido, enfermedades comúnmente asociadas a especies bacterianas como *Micrococcus*, *Streptococcus* y *Bacillus* (Cernei, Maxim, Mavru, & Indrei, 2013).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2019), virus, bacterias y hongos son considerados agentes biológicos capaces de causar enfermedades en individuos expuestos a ambientes contaminados. Esto se vuelve especialmente relevante en ambientes nosocomiales, como los laboratorios y entornos cercanos a ellos, que es el caso específico de nuestro estudio. Utilizamos estos estudios como punto de partida, no solo para tener una base bibliográfica en relación con contaminaciones ambientales en general, sino también para orientar nuestro enfoque en un entorno específico: el laboratorio clínico-microbiológico de la Dirección Hospitalaria Guayaquil dentro de un centro de salud (Ministerio de Salud Pública - MSP, 2018).

1.2 Delimitación del problema

Espacio

Basándonos en el contexto de la investigación, este estudio tiene como objetivo evaluar si el laboratorio de análisis clínico-microbiológico de la Dirección Hospitalaria Guayaquil, un hospital de nivel regional III ubicado en la ciudad de Guayaquil, cumple de manera integral con los estándares de aceptación de contaminación microbiológica. Esta evaluación se fundamenta en la premisa de que estos departamentos hospitalarios deben cumplir completamente, e incluso con mayor rigurosidad, con los parámetros y

especificaciones estrictamente definidos. Estos requisitos buscan contribuir a la asepsia y esterilidad tanto de las muestras manipuladas como de las áreas en sí, asegurando así la seguridad y calidad en los servicios proporcionados a los pacientes.

Tiempo

La información bibliográfica y las referencias en línea utilizadas para la investigación se centrarán en los últimos cinco años.

1.3 Formulación del problema

¿El análisis de la calidad microbiológica incide en el aire de las instalaciones del servicio de laboratorio clínico de la Dirección Hospitalaria Guayaquil?

1.4 Pregunta de investigación

¿El aire de las instalaciones del servicio de laboratorio clínico de la Dirección Hospitalaria Guayaquil cumple con estándares de calidad?

¿Qué microorganismos se lograron detectar en el aire de las instalaciones del servicio de laboratorio clínico de la Dirección Hospitalaria Guayaquil?

1.5 Objetivo general

Evaluar microbiológicamente la calidad del aire en las instalaciones del servicio de laboratorio clínico de la Dirección Hospitalaria Guayaquil

1.6 Objetivos específicos

- Identificar bacterias, hongos y cualquier patógeno recuperado del ambiente aéreo de las instalaciones del servicio de laboratorio clínico de la Dirección Hospitalaria Guayaquil.

- Cuantificar el nivel de contaminación microbiano por m³ de aire de las instalaciones del servicio de laboratorio clínico de la Dirección Hospitalaria Guayaquil mediante la fórmula de Omeliansky.
- Diseñar un plan de control ambiental que contribuya en la evaluación de la calidad microbiológica del aire mediante el empleo de técnicas actualizadas y validadas aplicables en una unidad médica hospitalaria.

1.7 Hipótesis

Considerando la revisión crítica de la literatura científica sobre la calidad microbiológica del aire en los ambientes del servicio de laboratorio clínico, se formula la hipótesis: ¿El análisis de la calidad microbiológica del aire en las instalaciones del servicio de laboratorio clínico de la Dirección Hospitalaria Guayaquil revelará la presencia de microorganismos patógenos en niveles que exceden los estándares aceptables, lo que sugiere un riesgo potencial para la salud del personal y de los pacientes?.

1.8 Declaración de las variables (operacionalización)

Para el presente estudio, podemos distinguir la variable dependiente, que se centra en la identificación de bacterias y hongos considerados patógenos, los cuales coexisten y se desplazan a través del aire. Se buscará determinar su concentración en estos entornos. Por otro lado, en cuanto a la variable independiente, consideraremos parámetros ambientales, como los físicos de las áreas objeto de análisis, que incluirán la humedad relativa y la temperatura. Asimismo, se incluirá una variable de respuesta: el crecimiento del microorganismo en unidades formadoras de colonias por metro cúbico del área analizada. A través de mediciones y la aplicación de estándares internacionales normalizados en la actualidad, el objetivo es identificar el nivel de contaminación microbiana específicamente en el laboratorio clínico-microbiológico de la Dirección Hospitalaria Guayaquil.

Tabla 1 de Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Valores unidades	Naturaleza	Escala de medición
Tipo de patógenos	Los microorganismos o agentes descritos como patógenos son las bacterias, los protozoos, los hongos, los virus, etc.	Gérmenes Patógenos identificados como positivos luego de realizar la respectiva técnica de muestreo y correspondiente análisis	Escherichia coli Klebsiella penumoniae Proteus mirabilis Enterobacter Pseudomonas Citrobacter. Staphylococcus epidermidis Staphylococcus saprophyticus aureus Streptococcus del grupo B Enterococcus spp tuberculosis Chlamydia trachomatis Candida spp Otro	Cualitativa	Nominal Politómica
Parámetros ambientales	Son aquellos que refieren a ciertas condiciones particulares que deben lograrse y mantenerse en un ambiente para cumplir con los estándares de calidad	Aspectos físicos de las áreas objeto de análisis, que incluirán la humedad relativa y la temperatura	Humedad, temperatura, porcentaje de luz solar o iluminación, PH de áreas de trabajo, etc	Cualitativa	Nominal Politómica
Crecimiento de colonias/número	Es el resultado de la multiplicación de un microorganismo sobre la superficie de un medio sólido.	Se tomara en consideración el numero de colonias de acuerdo a la técnica empleada y el tiempo de cultivo	UFC/m3	Cuantitativa	Discreta

Realizado por: autores

1.9 Justificación

En la vida cotidiana, las personas suelen ocupar la mayor parte de su tiempo en situaciones donde hay aglomeración, especialmente en ambientes cerrados. Esta circunstancia podría propiciar la interacción entre individuos que podrían ser portadores de ciertos patógenos. Estos patógenos, en condiciones ambientales favorables, tienen la capacidad de transportarse e incluso multiplicarse, dando lugar a la contaminación del aire interior mediante bioaerosoles. Esta situación representa un riesgo real para la salud humana debido a la exposición a los contaminantes atmosféricos presentes en el aire (Ferguson, y otros, 2020). Por lo tanto, se comprende que las personas destinan aproximadamente el 80% de su tiempo a lugares con aglomeración, como bancos, parques, escuelas, universidades, lugares de trabajo e incluso al organizar reuniones en sus propios hogares.

Precisamente en este tipo de entornos es donde las bacterias, hongos y virus, en particular, representan posibles fuentes de contaminación biológica del aire circundante (Badea, Chirita, Androne, & Olaru, 2015). Es importante destacar que, según investigaciones médicas, una persona promedio en su vida diaria inhala y exhala aproximadamente entre 7 a 10 litros por minuto, lo que implica una necesidad de 4 a 6 metros cúbicos de aire diarios. Por lo tanto, resulta esencial estudiar y evaluar la calidad del aire desde una perspectiva microbiológica para deducir los posibles riesgos a los que una persona podría estar expuesta a diario (Dang, Vuong, Nguyen, & Phan, 2020).

La mejora de la calidad del aire interior (IAQ, por sus siglas en inglés, Indoor Air Quality) tiene un impacto directo en la calidad de vida, la salud y el bienestar de las personas que ocupan un espacio determinado. Este aspecto cobra aún más relevancia en el contexto actual, marcado por una pandemia que ha afectado a aproximadamente el 90% de los países a nivel mundial, generando una atención especial hacia los entornos educativos y laborales. El análisis de estos ambientes se convierte en crucial para determinar si la contaminación en estos medios podría ser responsable de reacciones tóxicas o alérgicas (Bragoszezewska & Biedron, 2018).

Es importante destacar que, tras la experiencia de la pandemia de COVID-19, se ha convertido en una necesidad imperante analizar la calidad del aire en diversos niveles de centros de salud, especialmente en hospitales de nivel II y III. Dado que estos centros tienen la capacidad de hospitalizar pacientes, sus entornos son más susceptibles a la contaminación, lo que podría hacerlos propicios para albergar microorganismos oportunistas capaces de causar infecciones, particularmente del tipo nosocomial, algunas de las cuales podrían tener consecuencias letales (USP, 2012).

Este contexto y las evidencias resultantes han impulsado el resurgimiento del interés en unir esfuerzos para garantizar la seguridad epidemiológica del aire, especialmente en preparación para enfrentar epidemias de infecciones respiratorias causadas por virus como el SARS y el MERS, la pandemia de COVID-19 (SARS-CoV-2), brotes de influenza y también por bacterias como *Klebsiella* o las responsables de la tuberculosis, como el bacilo de Koch. Este renovado interés busca prevenir el origen o la propagación a nivel mundial de bacterias multirresistentes (Brusina, Chezganova, & Drozdova, 2020).

El aire sirve como un medio propicio para la propagación o dispersión de diversos microorganismos, lo que genera un interés significativo en establecer estándares de calidad del aire, especialmente en el caso específico del laboratorio clínico y de microbiología de la Dirección Hospitalaria Guayaquil. Este laboratorio se distingue por su alta productividad diaria debido a los servicios que ofrece, así como por los múltiples riesgos biológicos que podría conllevar un entorno contaminado.

A pesar de que, en teoría, se espera que el laboratorio de un hospital sea uno de los lugares de trabajo con mayores niveles de asepsia y seguridad, este enfoque no siempre se implementa en la práctica. El propósito de este estudio es demostrar que estas áreas a menudo son las que mantienen mayores niveles de exposición a la contaminación, con una amplia variedad de peligros y riesgos biológicos asociados a las tareas y funciones llevadas a cabo en dichos espacios (Romero, Castañedas, & Acosta, 2016).

Es importante destacar que los hospitales y los laboratorios de microbiología representan dos entornos interiores con posiblemente el mayor potencial para la aerosolización de

microorganismos patógenos (Pepper & Gerba). En este contexto, en lo que respecta a la investigación sobre la calidad del aire en un laboratorio, específicamente en el caso del laboratorio de microbiología de la Dirección Hospitalaria Guayaquil perteneciente a la Policía Nacional del Ecuador, este estudio se presenta como innovador.

Existen pocos estudios de esta naturaleza en la región, y este se configura como el primer análisis que evalúa la calidad microbiológica del aire en el laboratorio microbiológico de un centro de salud en la región costera de Ecuador.

CAPITULO II: Marco teórico referencial

2.1 Contaminación y calidad de aire intramural

El término "aire interior" generalmente se refiere a entornos interiores no industriales, como edificios de oficinas, instalaciones públicas (colegios, hospitales, teatros, restaurantes, etc.) y viviendas particulares. Las concentraciones de contaminantes en el aire interior de estas estructuras suelen ser comparables a las encontradas comúnmente en el aire exterior y significativamente menores que las presentes en entornos industriales, donde se aplican normas ampliamente conocidas para evaluar la calidad del aire. A pesar de esto, muchos ocupantes de edificios expresan preocupaciones sobre la calidad del aire que respiran, lo que subraya la necesidad de investigar y prevenir la problemática de los llamados "edificios enfermos" (Hazan, Que, Maura, & Rahme, 2012).

Comúnmente, los lugares que experimentan problemas de calidad del aire interior suelen albergar microorganismos que provocan molestias frecuentes, como irritaciones oculares, problemas respiratorios de naturaleza alérgica y afecciones cutáneas. La calidad del aire en estos entornos está influenciada por diversas variables, como emisiones derivadas del hacinamiento, presencia de animales, tabaquismo, uso de combustibles y otros productos domésticos. Además, factores como el intercambio de aire con el exterior (influenciado por la ventilación, aislamiento térmico e infiltración), la eliminación de contaminantes mediante filtros de aire y adsorción, la dilución de contaminantes y el diseño de la construcción, contribuyen a determinar la calidad general del aire. En términos de su origen, los contaminantes intradomiciliarios pueden clasificarse en tres categorías: aquellos derivados de la combustión, los de origen biológico y otros de naturaleza miscelánea (Prathab & Lalitha, 2012).

La situación descrita convierte al aire en uno de los principales portadores de infecciones para las personas, ya que representa un impacto creciente en la salud humana desde tres perspectivas: alergias, infecciones e intoxicaciones. Por esta razón, es esencial conocer la calidad microbiana del aire confinado, ya que constituye el mecanismo más fundamental para la prevención de enfermedades (Ilies, y otros, 2018).

2.2 Microorganismos en el aire

La atmósfera no alberga un *microbiota autóctono*, pero funciona como un medio para la dispersión de diversos tipos de microorganismos como bacterias, virus y hongos, provenientes de otros entornos. Algunos de estos microorganismos han desarrollado adaptaciones especializadas que favorecen su supervivencia y permanencia en este medio. La dispersión de microorganismos a través del aire es de gran importancia tanto biológica como económicamente, ya que pueden ocasionar enfermedades en plantas, animales y seres humanos, generar alteraciones en alimentos y materiales orgánicos, así como contribuir al deterioro y corrosión de monumentos y metales (Damit, 2013).

Los microorganismos tienen la capacidad de ser transportados de manera rápida en forma de bioaerosoles, a través de distancias considerablemente extensas, aprovechando el movimiento del aire como la vía principal de dispersión. Algunos de estos microorganismos han desarrollado adaptaciones especializadas que facilitan su supervivencia y esparcimiento en la atmósfera. Este transporte se lleva a cabo mediante partículas de polvo, fragmentos de hojas secas, piel, fibras de la ropa, gotas de agua, o incluso gotas de saliva expulsadas al toser, estornudar o hablar (Becker, Heilmann, & Peters, 2014).

2.3 Tipos de microorganismos en el aire

El aire en suspensión alberga diversos tipos de microorganismos, principalmente bacterias y hongos. La presencia de uno u otro depende del origen de las partículas, la dirección e intensidad de las corrientes de aire, así como de la capacidad de supervivencia del microorganismo en cuestión. Aunque el aire interior cuenta con una variada gama de partículas de origen biológico (biopartículas), la presencia de microorganismos, como virus, bacterias, hongos y protozoos, es de gran relevancia para la salud. Además de estos microorganismos, el aire puede contener granos de polen, detritus animal, fragmentos de insectos y ácaros junto con sus productos de excreción (Romero, Castañedas, & Acosta, 2016).

Entre las bacterias identificadas en el aire, es común hallar bacilos pleomórficos Gram positivos, como *Corynebacterium*, así como cocos Gram positivos, entre los cuales se encuentran *Micrococcus* y *Staphylococcus*. Además, se pueden encontrar bacilos Gram negativos, como *Flavobacterium* y *Alcaligenes*, aunque en menor proporción según las investigaciones de De La Rosa (2002) (SAMPSP, 2016).

En cuanto a los hongos, *Cladosporium* es la especie predominante en el aire, tanto en ambientes terrestres como marinos. No obstante, también es frecuente encontrar otros tipos de mohos, como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* y *Mucor*, junto con la levadura *Rhodotorula*. Es relevante señalar que los virus también pueden estar presentes en el aire y ser transportados por él. Diversos virus humanos, como Orto y Paramixovirus, Poxvirus y Picornavirus, tienen la capacidad de transmitirse principalmente a través de la vía respiratoria, especialmente en entornos cerrados (Awad & Mawla, 2012; Villamar, 2009).

2.4 Número y distribución de microorganismos

La cantidad de microorganismos presentes en la atmósfera varía según la altitud, siendo más elevada cerca del suelo, especialmente en los dos metros inferiores que constituyen el microclima cercano al hombre. A medida que la altitud aumenta, la concentración de microorganismos disminuye hasta alcanzar altitudes de 200 metros, volviéndose más escasos hasta llegar a los 5.000 metros. Su presencia es rara en la troposfera y no se encuentran en la estratósfera. El número de microorganismos en el aire en áreas pobladas está influenciado por la actividad industrial y agrícola, así como por la presencia de seres vivos y la cantidad de polvo en la zona (Pepper & Gerba).

La concentración de microorganismos es más alta en zonas pobladas y en áreas cercanas al mar, especialmente cerca de las costas. En regiones desérticas, la presencia de microorganismos se limita a los aportados por los vientos provenientes de zonas habitables cercanas, mientras que en los casquetes polares no se encuentran. En zonas con climas secos, el aire contiene numerosos microorganismos, y la concentración

disminuye después de la lluvia, ya que esta arrastra los microorganismos mediante el lavado del aire (Berman, 2018).

2.5 Permanencia y supervivencia

El tiempo durante el cual los microorganismos permanecen en el aire está condicionado por su forma, tamaño y peso, así como por la presencia y la fuerza de las corrientes de aire que los mantienen suspendidos y los elevan. Obstáculos como la resistencia al viento pueden reducir la velocidad y la capacidad de arrastre de los microorganismos, mientras que las precipitaciones pueden llevar las partículas suspendidas hasta el suelo. Además, factores como la temperatura, la humedad, las corrientes de aire y la exposición a la luz también influyen en la adaptación de las bacterias a distintos entornos, lo que puede favorecer o desfavorecer su reproducción y presencia en el aire, afectando la dinámica de diferentes microorganismos (Botet, 2006).

En términos generales, las bajas temperaturas tienen un efecto inhibitorio en el crecimiento de numerosos microorganismos. Sin embargo, ciertas especies, como mohos y levaduras, prosperan en entornos fríos. Por otro lado, hay microorganismos, como *Aspergillus* sp, *Legionella pneumophila* o *Thermoactinomyces vulgaris*, que alcanzan su desarrollo óptimo a temperaturas elevadas (Borrego, Lavin, Perdomo, Gomez, & Guiamet, 2012).

Las condiciones de alta humedad en el ambiente promueven el desarrollo de hongos, bacterias y ácaros del polvo doméstico. La circulación del aire desempeña un papel importante en el transporte, mantenimiento y liberación de contaminantes biológicos, ya sea desde el exterior o desde fuentes internas. Asimismo, el tipo y la intensidad de la luz pueden tener efectos tanto beneficiosos como inhibidores en el crecimiento de los microorganismos. Por ejemplo, la luz ultravioleta tiene propiedades inhibitorias, mientras que la falta de luz impide la formación de esporas en algunos hongos (Heitzmann, 2015).

2.6 Flora normal de los seres humanos

Se refiere al conjunto de microorganismos que coexisten de manera normal con un huésped sin provocarle enfermedad. Desde varias perspectivas, la flora microbiana normal del cuerpo humano desempeña un papel crucial como mecanismo defensivo del huésped. Contribuye al desarrollo de la respuesta inmunológica, como se ha evidenciado en modelos animales que nacen y se crían en condiciones de esterilidad (individuos axénicos), los cuales muestran un desarrollo deficiente de los distintos componentes de su sistema inmunológico. Además, la flora ayuda a prevenir la colonización de la piel o las mucosas por bacterias potencialmente patógenas, ya que, para iniciar una infección, los gérmenes suelen competir con los miembros de la flora por factores como receptores celulares y nutrientes en los epitelios (Villamar, 2009).

2.7 Flora transitoria

La composición de la flora microbiana es variable de una persona a otra y está formada por microorganismos que colonizan un área específica de manera intermitente. Esta flora temporal puede contener bacterias que podrían ser potencialmente patógenas para el individuo mismo o para otras personas que entren en contacto con él (Jara, 2018).

2.8 Efecto de las infecciones nosocomiales

Las infecciones nosocomiales aumentan la discapacidad funcional y el estrés emocional del paciente, y en ocasiones pueden resultar en trastornos incapacitantes que disminuyen la calidad de vida. También son una de las principales causas de mortalidad. Los costos económicos asociados a la atención de estas enfermedades son considerablemente elevados (Ministerio de Salud Pública - MSP, 2018).

2.9 Factores influyentes en la manifestación de las infecciones nosocomiales:

Durante la hospitalización, el paciente se encuentra expuesto a diversos microorganismos. Es importante destacar que el simple contacto entre el paciente y un

microorganismo no siempre resulta en una enfermedad clínica, ya que existen otros factores, mencionados a continuación, que influyen en la naturaleza y frecuencia de las infecciones nosocomiales (GMP, 2009).

2.10 El agente microbiano

Diversos microorganismos, como bacterias, virus, hongos y parásitos, pueden ser responsables de las infecciones nosocomiales. Estas infecciones pueden originarse por la transmisión de microorganismos de persona a persona en el entorno hospitalario (infección cruzada) o por la propia flora del paciente (infección endógena). Además, algunos microorganismos pueden propagarse a través de objetos inanimados o sustancias recién contaminadas, provenientes de otros focos de infección humana en el entorno hospitalario (infección ambiental) (Ministerio de Salud Pública - MSP, 2018).

2.11 Adaptación bacteriana

La resistencia a los antimicrobianos se atribuye principalmente al uso generalizado de estos agentes para el tratamiento o la profilaxis, incluso en aplicaciones tópicas. En muchos casos, la eficacia de estos productos se ve comprometida debido a la resistencia. El aumento significativo en el uso continuo de un antimicrobiano puede dar lugar, con el tiempo, al desarrollo de cepas bacterianas resistentes, las cuales pueden propagarse dentro de entornos de atención médica. Actualmente, numerosas cepas de microorganismos, como neumococos, estafilococos, enterococos y bacilos de la tuberculosis, presentan resistencia a la mayoría o la totalidad de los antimicrobianos que antes eran efectivos contra ellas.

En muchos hospitales, las cepas de *Klebsiella* y *Pseudomonas aeruginosa* con resistencia a múltiples fármacos son prevalentes. Este problema adquiere una importancia crítica, especialmente en países en desarrollo, donde puede que no se disponga de antibióticos de segunda línea o, si están disponibles, su costo resulta inaccesible. Una posible estrategia para abordar estos fenómenos adaptativos es la rotación entre diferentes desinfectantes. En esencia, esta práctica implica cambiar

periódicamente, dependiendo de la empresa, el tipo de contaminación y su extensión, el desinfectante utilizado, creando un ciclo que involucra dos o preferiblemente tres productos de desinfección distintos (Condair, 2017).

Sin embargo, en años recientes, se ha identificado un problema adicional, aparentemente significativo. Este problema implica la aparición de fenómenos de adaptación cruzada entre distintos desinfectantes, lo que resulta en un aumento de la supervivencia de los microorganismos. Esta adaptación cruzada no parece ser el resultado de respuestas genéticas específicas, sino de cambios celulares inespecíficos. Actualmente, hay escasa información sobre cómo estas respuestas podrían afectar a la rotación. No obstante, este enfoque de desinfección sigue siendo el que proporciona la mejor respuesta para prevenir la formación de biofilms, su progresión y los aumentos significativos en los riesgos alimentarios (Blevis & Bronze, 2009).

2.12 Ventilación en los hospitales

Conforme a la normativa técnica de prevención (NTP) 859, que establece que en los entornos hospitalarios, la ventilación debe satisfacer las exigencias clínicas y asegurar condiciones sanitarias apropiadas para proteger tanto a los pacientes como a los profesionales que desempeñan sus labores en este contexto. Simultáneamente, busca realizar el tratamiento térmico adecuado del entorno (Botet, 2006).

Desde la perspectiva de la prevención de riesgos laborales, la ventilación en los lugares de trabajo representa una medida de protección colectiva destinada a eliminar o reducir la presencia de agentes contaminantes en el ambiente laboral. Esta Nota Técnica de Prevención (NTP) aborda los criterios establecidos en diversas normativas aplicables con el objetivo de asegurar una calidad del aire óptima (Ambrose, Nweke, Umeh, & Braide, 2015).

2.13 Salud del huésped

Aquellas personas con defensas inmunológicas disminuidas son más susceptibles a contraer enfermedades nosocomiales. Este debilitamiento del sistema inmunológico puede deberse a diversas razones, como padecer una enfermedad autoinmune como el VIH/SIDA, someterse a tratamientos de radioterapia, experimentar quemaduras extensas, haberse sometido recientemente a una cirugía, o estar afectado por una infección viral que comprometa la eficacia del sistema inmunológico.

2.14 La calidad del aire interior IAQ (Indoor Air Quality)

La exposición a contaminantes transportados por el aire se produce principalmente a través del aire interior, ya que las personas pasan la mayor parte de su tiempo en entornos cerrados (Xu, 2014). La calidad del aire interior (IAQ, por sus siglas en inglés) es un concepto que aborda la pureza del aire dentro de edificaciones y puede estar influenciada por diversos factores, entre ellos, los contaminantes microbianos (Heitzmann, 2015).

La mejora de la IAQ ha cobrado mayor relevancia en la investigación científica con el objetivo de optimizar la comodidad, la salud y el bienestar de los individuos que ocupan un edificio (Cincinelli & Martellini, 2017).

La polución del aire en espacios cerrados constituye un desafío significativo, ya que las personas inhalan entre 6 y 10 litros de aire por minuto, sumando un total de 15,000 litros diarios (Bragoszewska & Biedron, 2018). En cada inspiración, no solo se ingiere el oxígeno esencial para la vida, sino también los contaminantes presentes en el aire. La baja calidad del aire en ambientes cerrados puede tener repercusiones en la salud individual y, en términos más generales, en la salud pública y la productividad nacional (SAMPSP, 2016).

2.15 Salud y Bienestar

El tercer objetivo de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la Agenda de Desarrollo Sostenible 2030 establece la importancia de garantizar una vida sana y promover el bienestar para todos (Ferguson, y otros, 2020). El bienestar está influenciado por diversos factores, siendo la calidad del aire uno de ellos. Por ende, es fundamental conocer la composición real del aire que respiramos.

La calidad del aire interior (IAQ) se ha convertido en un motivo de preocupación pública, especialmente teniendo en cuenta que, en los países desarrollados, alrededor del 80% del tiempo se pasa en ambientes cerrados (Ilies, y otros, 2018). Por lo tanto, los problemas relacionados con la IAQ constituyen un riesgo significativo para la salud humana y representan un asunto considerable de salud pública, asociado a alergias y enfermedades respiratorias (Caldeira, França, Lage, & Fernandes, 2012). En este contexto, este estudio se presenta como una herramienta valiosa para abogar por la implementación de estrategias de control ambiental efectivas con el objetivo de minimizar los impactos adversos en la salud causados por agentes biológicos presentes en el aire en lugares cerrados.

2.16 La “nube microbiana” humana en el ambiente

El microbioma humano contribuye a la presencia de genomas bacterianos en el aire interior. Las bacterias vinculadas a los seres humanos se dispersan a través del contacto con superficies, la emisión de bioaerosoles al exhalar, la presencia en la ropa, la piel, el cabello y la re suspensión del polvo en espacios cerrados. Se estima que las personas emiten alrededor de 1 millón de partículas con un diámetro mayor a $0,5 \mu\text{m}$ por hora, y muchas de estas partículas posiblemente contienen bacterias. Por lo tanto, las personas que residen en ambientes cerrados son una fuente significativa de contaminación microbiológica tanto para el aire como para las superficies. Estudios demuestran de manera concluyente que los individuos en entornos controlados, incluso cuando se visten con precaución y adecuadamente, liberan constantemente microorganismos al entorno (Hospodsky, y otros, 2012).

En promedio, una persona libera alrededor de 800 partículas por minuto al hablar, mientras que, al estornudar, la cifra puede llegar hasta 40,000, e incluso más en el caso de una persona enferma (Awad & Mawla, 2012). La reciente pandemia de COVID-19, asociada al síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2), ha resaltado la importancia de comprender la dinámica de las gotas generadas al toser y estornudar. Se estima que una tos produce aproximadamente 3,000 gotas, y un estornudo, alrededor de 40,000. La transmisión del SARS-CoV-2 a través del aire, mediante gotas o bioaerosoles, es la causa de la enfermedad COVID-19. Además, la pandemia de gripe de 2009, causada por el virus de la influenza A H1N1, también aumentó la conciencia sobre los bioaerosoles (Delikhoon, Guzman, Nabizadeh, & Baghani, 2021).

2.17 La micro aeroflora, bioaerosoles y sus efectos biológicos

La composición de la microflora del aire se puede clasificar en dos grupos principales: "permanente", que abarca microorganismos resistentes a condiciones adversas como la luz y el secado; y "variables", que son aquellos que, al ingresar al aire, no logran sobrevivir debido a dichos factores desfavorables. La aeromicrobiología se dedica al estudio del material biológico presente en el aire o en la atmósfera. Aunque la microflora del aire es extremadamente diversa, con cientos de especies, destacan las bacterias saprofitas, esporógenas y pigmentadas (Pepper & Gerba).

La porción biológica presente en la atmósfera recibe el nombre de bioaerosol, que engloba todas las partículas, moléculas y compuestos en el aire derivados de organismos vivos. Esto comprende bacterias, virus, hongos como mohos y levaduras, protozoos, y moléculas biológicamente activas como toxinas o antígenos, incluyendo endotoxinas. Además, en el aire interior, es posible encontrar alérgenos, un grupo de agentes que provocan respuestas inmunológicas mediadas por la inmunoglobulina IgE en los humanos. Las partículas de origen biológico transportadas por el aire, o bioaerosoles, incorporan fragmentos de ADN y también se definen como aerosoles con trazas biológicas. Es relevante señalar que los virus no se consideran organismos vivos (Forterre, 2020).

Las bacterias y hongos presentes en el aire representan posibles desencadenantes de efectos infecciosos, alérgicos e inmunotóxicos. Los mohos, en particular, pueden tener impactos en la salud, manifestándose en síntomas como dolores de cabeza, dificultades para respirar, irritación cutánea y agravamiento de los síntomas del asma. Cabe destacar que los hongos contaminantes son especialmente preocupantes debido a su capacidad para producir micotoxinas y alérgenos (Ferguson, y otros, 2020).

El síndrome del edificio enfermo (SBS) se refiere a un conjunto de síntomas vinculados con la disminución de la comodidad o la salud debido a las condiciones atmosféricas interiores. Estos síntomas incluyen irritación ocular y cutánea, dolores de cabeza, somnolencia, estrés, náuseas, sequedad en la garganta, tos, secreción nasal, entre otros. Entre los factores asociados con el SBS se encuentran los aerodispersoides (como fibras y polvo) y bioaerosoles (como bacterias, hongos y virus), entre otros (Ilies, y otros, 2018).

2.18 Fuentes comunes de bioaerosoles

Las actividades humanas, como hablar, estornudar, toser, caminar y lavarse, tienen el potencial de generar polvo biológico en forma de bioaerosoles en el aire. Bacterias y hongos también pueden provenir de fuentes externas, como el suelo o las plantas, transportándose al interior a través del polvo llevado por el viento.

Además, los microorganismos ingresan al aire mediante el desprendimiento de epitelios de la piel, a partir de alimentos, heces o polvo proveniente de objetos contaminados, como ropa y mantas. Las fuentes de aerosoles también pueden incluir sistemas de ventilación, procedimientos de limpieza o desinfección. El proceso aeromicrobiológico involucra el lanzamiento de bioaerosoles al aire, su transporte subsiguiente por difusión y dispersión, y finalmente su deposición (Dang, Vuong, Nguyen, & Phan, 2020).

2.19 Los bioaerosoles en el entorno hospitalario

El entorno del aire interior en un hospital presenta potencialmente mayores riesgos para los pacientes en comparación con el entorno exterior, ya que los espacios cerrados pueden contener aerosoles que representan un riesgo de infecciones nosocomiales. La contaminación aerogénica se origina en agentes patógenos procedentes de pacientes o individuos portadores sanos presentes en la flora nasal/faríngea, cavidad oral y/o secreción bronquial, así como de la piel y el tracto digestivo (Cernei, Maxim, Mavru, & Indrei, 2013).

Los bioaerosoles presentes en el entorno hospitalario se generan a través de diversas actividades como hablar, toser, estornudar, procedimientos de ventilación manual previos a la intubación, ventilación mecánica, desbridamiento del árbol traqueobronquial, traqueotomía, oxigenoterapia de alto flujo, BiPAP, broncoscopia, inserción de sonda nasogástrica, succión de fluidos biológicos, compresión torácica, sistemas de ventilación, uso de duchas, descarga de agua en el inodoro, recolección de esputo, manejo de instrumentos de alta energía enfriados con agua, nebulización, entre otras (Brusina, Chezganova, & Drozdova, 2020).

Los microorganismos indicadores de la calidad sanitaria del aire reflejan el estado de salubridad del mismo, ya que son liberados por animales, incluyendo a los humanos, y poseen propiedades patógenas. Ejemplos de estos indicadores son representantes de las familias *Streptococcaceae* o *Micrococcaceae*. La presencia de agentes patógenos como los estreptococos hemolíticos señala la contaminación del aire con la flora nasal/faríngea y oral (Cernei, Maxim, Mavru, & Indrei, 2013).

Los estafilococos, presentes tanto en las vías respiratorias superiores como en la superficie de la piel humana, junto con los gérmenes del grupo de los coliformes, indican un alto grado de insalubridad del aire. Los enterococos, aunque son bacterias comensales en el microbiota humano, pueden actuar como agentes infecciosos en pacientes inmunodeprimidos (Jara, 2018).

Staphylococcus aureus tiene la capacidad de resistir la desecación y permanecer viable durante meses en el entorno. Se identificó un cultivo multirresistente de *Staphylococcus aureus* en muestras de aire de una unidad de cuidados intensivos

(UCI), que estaba estrechamente relacionado con un cultivo aislado de un paciente de la misma UCI. Se infiere que esta bacteria podría haberse diseminado a través del aire. Además, se ha demostrado una estrecha correlación entre los recuentos bacterianos obtenidos del lavado de heridas y las placas de sedimentación en la herida (Pasquarella, Pitzurra, & Savino, 2000).

Esto evidencia de manera inequívoca que una herida expuesta es esencialmente análoga a una placa de sedimentación. Por ende, el entorno hospitalario complejo demanda una atención especial para asegurar una calidad del aire interior saludable y un sistema de control eficaz, con el objetivo de resguardar a los pacientes y al personal médico de posibles infecciones hospitalarias y enfermedades profesionales (Prathab & Lalitha, 2012).

2.20 El desafío de la supervivencia microbiana en el aire

En el aire coexisten numerosos microorganismos, aunque no constituye su hábitat ideal, ya que se deshidratan y perecen debido a factores como la exposición al sol, variaciones de temperatura, escasez de nutrientes, entre otros. No obstante, aquellos más resistentes pueden mantenerse con vida durante períodos prolongados en el aire, especialmente bacterias formadoras de esporas, hongos y protozoos formadores de quistes que poseen mecanismos específicos de supervivencia en ambientes gaseosos.

El aire se revela como un entorno adverso para la vida microbiana, ya que presenta bajos niveles de sustancias orgánicas y humedad. Por ello, la composición de la microflora del aire no es constante, y muchos microorganismos, al no encontrar recursos alimenticios y enfrentarse a la desecación, tienden a fallecer. Se reconoce que las bacterias Gram negativas reaccionan negativamente al estrés por desecación; en cambio, las bacterias Gram positivas muestran una mayor tolerancia. A pesar de este escenario inhóspito, la breve permanencia de los microbios en el aire es suficiente para facilitar la transmisión de bacterias y virus patógenos, dando lugar a la propagación de enfermedades, como la gripe, en la población (Pepper & Gerba).

En el periodo estival, el aire tiende a presentar una mayor contaminación debido a la incorporación masiva de microorganismos junto con partículas de polvo del suelo. Contrariamente, las temperaturas más bajas se vinculan con un aumento de la presencia de bacterias, siendo las lluvias un estímulo para la diversidad bacteriana, y la humedad propicia la supervivencia de las bacterias en el entorno atmosférico. Una sola gota de lluvia tiene la capacidad de generar más de 100 gotas de bioaerosol, cada una con un diámetro inferior a 10 μm (Borrego, Lavin, Perdomo, Gomez, & Guiamet, 2012).

La sedimentación de esporas y el aumento de la concentración de microorganismos viables se ven facilitados por el incremento de la humedad relativa del aire, ya que las partículas experimentan hinchazón y la precipitación se produce de manera más rápida (Ambrose, Nweke, Umeh, & Braide, 2015).

La humedad relativa guarda una relación inversa con la temperatura del aire, según lo señalado por Tichy et al. (2017). Para mantener condiciones internas óptimas en un entorno hospitalario, es esencial establecer tanto la temperatura adecuada como un nivel de humedad relativa comprendido entre el 40 % y el 60 %. Estas condiciones contribuyen a reducir la transmisión e infectividad de los patógenos presentes en el aire.

La Agencia de Protección Ambiental (EPA) recomienda que los niveles de humedad relativa en los hogares se mantengan por debajo del 60 %, preferiblemente entre el 30 % y el 50 %, con el fin de prevenir el desarrollo de moho (Dhand & Li, 2020). Para el crecimiento de los microorganismos, se requieren tres condiciones básicas: una fuente de alimento, temperatura y humedad. Por tanto, el monitoreo ambiental de microbios mediante el empleo de medios sólidos de cultivo crea condiciones propicias que respaldan su crecimiento óptimo y la formación de colonias visibles.

El comportamiento dinámico de un aerosol se ve afectado por diversos factores, tanto físicos (como el movimiento browniano, gradientes eléctricos, radiación electromagnética, campo gravitacional, densidad de partículas, gradientes térmicos, humedad y ventilación) como biológicos (nutrientes y compuestos antimicrobianos).

El número de colonias que se desarrollan en un plato de Petri mediante el método de sedimentación se ve considerablemente influido por el movimiento browniano, el cual impide la sedimentación de esporas de hongos pequeños como *Penicillium* y *Aspergillus* (Pasquarella, Pitzurra, & Savino, 2000).

Para prevenir o reducir los posibles impactos adversos para la salud derivados de los bioaerosoles, resulta fundamental implementar de manera inmediata un mecanismo de control que abarque la inactivación, eliminación o recolección en ubicaciones específicas. Los bioaerosoles presentan un comportamiento físico similar al de partículas no biológicas de tamaño y composición aerodinámica equivalentes, permitiendo así la aplicación de sistemas de control similares.

Los métodos empleados para gestionar los bioaerosoles abarcan la ventilación, la filtración (mediante filtros HEPA), la ozonización, el tratamiento con UV (ultravioleta), el aislamiento físico (mediante presión positiva o negativa) (Pepper & Gerba, 2015), el tratamiento térmico (calor húmedo o seco), la fotocatalisis inducida por irradiación UV de TiO₂ o la emisión de iones (Blevis & Bronze, 2009).

La técnica de filtración de aire de partículas de alta eficiencia (HEPA) se emplea con éxito para reducir los bioaerosoles en entornos como laboratorios y hospitales (J. Lee et al., 2019). Estos filtros poseen una eficiencia mínima de recolección de partículas del 99.97% para partículas mayores a 0.3 μm y funcionan de manera mecánica al forzar (mediante un ventilador) el paso del aire a través de una malla especial. Es crucial seguir procedimientos de limpieza y mantenimiento, ya que la carga del filtro puede disminuir su rendimiento, generando una falsa sensación de seguridad. Además, se recomienda someterlos a pruebas de fugas según la norma ISO 14644-3 cada seis meses (WHO, 2012).

2.21 Robert Heinrich Hermann Koch

R. Koch (1843 - 1910), médico originario de Prusia, es reconocido principalmente por su identificación de *Mycobacterium tuberculosis*. Destacó en diversas investigaciones relacionadas con la salud pública y la bacteriología (Blevis & Bronze, 2009). Los

postulados de Koch, una serie de observaciones y requisitos experimentales diseñados para demostrar la relación causal entre un organismo específico y una enfermedad infecciosa particular, son parte integral de su legado (Berman, 2018).

Desde la época de Louis Pasteur (1822-1895), quien evidenció, utilizando un medio nutritivo líquido expuesto al aire, que este contiene microorganismos vivos y refutó la teoría de la generación espontánea, hasta los días en que Robert Koch utilizó placas de sedimentación para evaluar la contaminación microbiana del aire en entornos cerrados, la microbiología del aire ha experimentado un notable avance (Botet, 2006).

Richard Julius Petri (1852 - 1921), microbiólogo alemán y asistente de R. Koch, propuso la innovadora idea de utilizar una tapa de vidrio ligeramente más grande en lugar de la campana tradicional en los platos de cultivo, dando origen a las famosas placas de Petri. Esta tapa podía permanecer colocada de forma continua, facilitando la observación de colonias y limitando la contaminación (Borrego, Lavin, Perdomo, Gomez, & Guiamet, 2012).

2.22 El método o técnica de sedimentación de Koch

La manera más simple de evaluar la población microbiana viable en el aire implica la exposición de placas de Petri que contienen un medio nutriente sólido, seguido de un período de incubación. Este método, originalmente propuesto por R. Koch en 1881, se basa en la capacidad de los microorganismos, influenciados por la gravedad y el movimiento del aire junto con partículas de polvo y aerosoles, para asentarse en la superficie del medio nutriente en las placas de Petri abiertas (Borisovich, 2018). Esta técnica, utilizada para investigar cuantitativamente el aire, se fundamenta en la precipitación natural de microorganismos bajo la influencia de la fuerza de gravedad (Grechaninova et al., 2016).

El procedimiento implica dejar las placas de Petri abiertas con un medio solidificado, seguido de un período de incubación, contando luego el número de colonias desarrolladas y recalculando este número por metro cúbico de aire (Plekhanov, 2012). Este método se emplea para evaluar la pureza del aire en entornos como fábricas

farmacéuticas, áreas de procesamiento de alimentos y salas hospitalarias (Whittet et al., 1965). Actualmente, el método de sedimentación se considera uno de los controles establecidos por las normas de Buenas Prácticas de Manufactura (GMP) para monitorear procesos en entornos limpios de Grado A (Rodríguez et al., 2017).

Las placas de sedimentación típicamente constan de placas de Petri de 9 cm de diámetro llenas con 20 a 30 ml de un medio de cultivo como agar triptona soja (TSA) o agar digerido de caseína de soja (USP(1116), 2012). Existen diversas formas de realizar el muestreo del aire para su uso en métodos de cultivo, como el método de sedimentación de Koch o muestreo pasivo, métodos de impacto o muestreo activo, y método de filtración y centrifugación (Badea, Chirita, Androne, & Olaru, 2015). Cuando se sigue un protocolo riguroso, los resultados de los métodos de muestreo activo y pasivo pueden correlacionarse (Napoli et al., 2012).

El método estático o de sedimentación pasiva implica dejar las placas abiertas durante un tiempo determinado, permitiendo que los microorganismos o partículas portadoras de bacterias se asienten directamente en el medio de cultivo (Haas et al., 2017). Aunque se sigue utilizando ampliamente como una técnica sencilla y económica para evaluar cualitativamente entornos durante exposiciones prolongadas, su aplicación puede ser particularmente beneficiosa en áreas críticas donde el muestreo activo podría resultar intrusivo y representar un riesgo para operaciones asépticas (USP(1116), 2012). En conformidad con las buenas prácticas de la Organización Mundial de la Salud (OMS), las placas de sedimentación se emplean para el monitoreo ambiental en laboratorios de microbiología farmacéutica, estableciendo límites de alerta y acción (RedPARF, 2013).

Ventajas del método de Koch

Las fortalezas del método de Koch radican en su rapidez para obtener resultados y su capacidad para identificar entre el 30% y el 60% de los microorganismos. Este método, siendo uno de los más antiguos, es ampliamente utilizado debido a su simplicidad y accesibilidad (Bhangar, y otros, 2015).

Además, no requiere equipamiento costoso y se caracteriza por su rapidez y simplicidad, proporcionando una aproximación efectiva de la concentración de bacterias y hongos. Este método, que está bien estandarizado, ofrece resultados comparativos valiosos para analizar la variación relativa de la contaminación entre diferentes puntos dentro de una habitación (Blevis & Bronze, 2009).

Desventajas del método de Koch

Las limitaciones del método de Koch incluyen su consideración como no cuantitativo, ya que la recolección se ve influenciada por la atmósfera circundante, así como por el tamaño y la forma de las partículas. En otras palabras, su fiabilidad se ve afectada por factores como el tamaño de partícula y el movimiento del aire en el entorno circundante. Además, solo las fracciones gruesas de aerosol se depositan en la superficie del medio; con frecuencia, las colonias no se originan a partir de una sola célula, sino de una acumulación de microorganismos, y solo una parte de la microflora del aire puede crecer en los medios nutritivos utilizados. Aunque no es completamente preciso, este método resulta útil para comparar datos dentro de un mismo estudio (Pasquarella, Pitzurra, & Savino, 2000).

Lamentablemente, las placas de sedimentación se utilizan de manera muy dispar en términos de diámetro de las placas, tiempos de exposición, composición de los medios nutritivos, temperaturas y tiempos de incubación, lo que dificulta la comparación de los datos obtenidos por diferentes operadores. Aunque se intentó estandarizar el método en la década de 1970 con el esquema 1/1/1 de Fisher, esta estandarización no ha sido universalmente adoptada (Ilies, y otros, 2018).

2.23 Vasily Leonidovich Omeliansky (В.Л. Омелянского)

V. L. Omelyansky (1867-1928), un microbiólogo soviético y discípulo de Vinogradsky, quien se graduó de la Universidad de San Petersburgo y contribuyó con varios trabajos fundamentales, resaltó características clave de los microorganismos, como su alta especificidad de acción y notable sensibilidad. Omelyansky propuso el método de sedimentación para el muestreo microbiológico ambiental, el cual ha sido utilizado

y reconocido en la investigación científica (Borrego, Lavin, Perdomo, Gomez, & Guiamet, 2012).

Aunque la concentración de microorganismos se calcula mediante la fórmula de Omelyansky al emplear la técnica de sedimentación, se reconoce la necesidad de investigaciones adicionales bajo diversas condiciones de. La fórmula de V. L. Omelyansky se utiliza para recalcular y estimar aproximadamente la cantidad de microorganismos presentes en 1 m³ de aire (Botet, 2006).

Las placas de Petri han perdurado en el tiempo con escasas modificaciones y continúan siendo fundamentales en la investigación científica. Las reglas para la preparación de placas de Petri, el método de sedimentación de Koch y la fórmula de Omelyansky no han experimentado cambios sustanciales a lo largo del tiempo. Estos métodos han sido utilizados por más de una generación de científicos y, aunque no han evolucionado, es posible que métodos más avanzados los sucedan en el futuro (Blevis & Bronze, 2009).

Parámetros referenciales para evaluar el grado o nivel de contaminación microbiológica del aire.

Existe una falta de normativas y pautas globales para evaluar la calidad del aire, tanto en términos generales como en lo que respecta a su calidad microbiológica. Actualmente, no hay estándares ni directrices universales para la evaluación de la calidad microbiológica del aire en interiores, ya que cada país establece sus propias regulaciones y recomendaciones específicas (Awad & Mawla, 2012).

El análisis de la *aeromicroflora* se presenta como una herramienta valiosa para caracterizar el potencial ambiental y evaluar la efectividad de prácticas como limpieza, desinfección y ventilación (Cernei, Maxim, Mavru, & Indrei, 2013). La monitorización del aire implica el uso de instrumentos de lectura directa con datos en tiempo real, mientras que el muestreo de aire se refiere a técnicas de muestreo que no proporcionan resultados inmediatos.

El monitoreo de entornos controlados se lleva a cabo mediante la aplicación de un programa de control ambiental, que incluye puntos de muestreo, métodos de muestreo, planificación de muestreo, establecimiento de límites y planes de acción (Botet, 2006). Una "sala limpia" se define como un espacio donde se controla la concentración de partículas en el aire para minimizar la introducción, generación y retención de partículas, y donde otros parámetros, como temperatura, humedad y presión, se controlan según sea necesario.

La norma ISO 14698 establece principios y metodologías para el control formal de la biocontaminación en salas blancas o entornos controlados. Aunque ofrece orientación en sus anexos A y B para evaluar y controlar la biocontaminación en muestras de aire, esta norma no ha sido ampliamente adoptada en comparación con la ISO 14644, ni se menciona en las guías de Buenas Prácticas de Manufactura (GMP) de la Unión Europea (GMP, 2009).

La biocontaminación es de especial preocupación en entornos no clasificados como salas blancas, como quirófanos, unidades de cuidados intensivos y salas de aislamiento en hospitales, que ahora se consideran entornos controlados limpios según la norma europea EN 17141. En biotecnología y medicina, las salas blancas se emplean para garantizar ambientes libres de bacterias, virus y otros patógenos (Badea, Chirita, Androne, & Olaru, 2015).

Tabla 1 Documentos de normas ISO para salas blancas

DocumentoISO	Título
ISO 14644-1	Clasificación de la limpieza del aire
ISO 14644-2	Pruebas de cumplimiento en salas blancas
ISO 14644-3	Métodos para evaluar y medir salas blancas y entornos controlados asociados
ISO 14644-4	Diseño y construcción de salas blancas
ISO 14644-5	Operaciones de sala limpia

ISO 14644-6	Términos, definiciones y unidades
ISO 14644-7	Dispositivos limpios mejorados
ISO 14644-8	Contaminación molecular
ISO 14698-1	Biocontaminación: Principios generales de control
ISO 14698-2	Biocontaminación: evaluación e interpretación de datos
ISO 14698-3	Biocontaminación: metodología para medir la eficiencia de la limpieza de superficies

Nota: Documentos de las normas ISO para salas blancas o limpias (TUI, 2012).

Las salas blancas y sus entornos controlados correspondientes ofrecen un control preciso de la contaminación del aire y de las superficies, manteniendo niveles adecuados para llevar a cabo actividades altamente sensibles a la contaminación. Estas actividades se encuentran comúnmente en sectores como la industria aeroespacial, microelectrónica, farmacéutica, dispositivos médicos, salud y alimentos. La norma ISO 14644 proporciona un marco para la clasificación de salas blancas o áreas limpias, que varía de la clase ISO 1 a la ISO 9 (Blevis & Bronze, 2009).

Esta clasificación se realiza según la limpieza del aire, evaluando la cantidad de partículas de determinados tamaños por metro cúbico de aire mediante un método estándar (Tabla 1). Los contadores de partículas de dispersión de luz en el aire (LSAPC) son comúnmente empleados para llevar a cabo la clasificación de limpieza del aire (Ingelyt., 2015).

Tabla 2 Categorías de limpieza en el aire para las salas blancas y zonas limpias, ISO 14644

ISO Clase	≥ 0.1 μm	≥ 0.2 μm	≥ 0.3 μm	≥ 0.5 μm	≥ 1.0 μm	≥ 5.0 μm
Clase ISO 1	10	2				
Clase ISO 2	100	24	10	4		
Clase ISO 3	1,000	237	102	35	8	
Clase ISO 4	10,000	2,370	1,020	352	83	
Clase ISO 5	100,000	23,700	10,200	3,520	832	29

Clase ISO 6	1,000,000	237,000	102,000	35,200	8,320	293
Clase ISO 7				352,000	83,200	2,930
Clase ISO 8				3,520,000	832,000	29,300
Clase ISO 9				35,200,000	8,320,000	293,000

Nota: Límites máximos de concentración para las partículas por m³ de aire en función de su cantidad y tamaño para salas blancas y entornos controlados asociados (Ingelyt., 2015).

Una sala limpia ISO 1 exhibe los niveles más bajos de contaminación, mientras que una sala limpia ISO 9 permite el nivel más alto permitido. Como referencia, el aire en un entorno urbano común puede contener hasta 35,000,000 partículas por metro cúbico, con un diámetro de 0.5 µm o más, situándose en la categoría de sala limpia ISO clase 9 (Botet, 2006).

El estándar federal 209 (FS209E), que comprende seis clases (clase 1 a 100,000), designa la sala limpia "más limpia" como clase 1, y la sala limpia "más sucia" como clase 100,000 (Tabla 5) (TUI, 2012). Este estándar fue discontinuado en 2001 y reemplazado por la norma ISO (Ingelyt, 2015). En el FS209E, el número de clase indicaba la cantidad máxima de partículas de 0.5 µm permitidas en un pie cúbico de aire. Por ejemplo, en una clase ISO 5, se permiten menos de 3,520 partículas de 0.5 µm por metro cúbico, lo que equivale a 100 partículas (clase 100) por pie cúbico según el FS209E (Tabla 2) (Borrego, Lavin, Perdomo, Gomez, & Guiamet, 2012).

Tabla 3 Clasificación de sala limpia de acuerdo con la Norma Federal 209

Clase	0.1 µm	0.2 µm	0.3 µm	0.5 µm	5 µm
1	35	7	3	1	
10	350	75	30	10	
100	3500	750	300	100	
1,000				1,000	7
10,000				10,000	70
100,000				100,000	700

Nota: Máximo número de partículas en el aire (partículas por ft³ de aire) para salas limpias según el Estándar Federal 209 (Blevis & Bronze, 2009).

El Anexo de las Buenas Prácticas de Fabricación de la Unión Europea (EU GMP) y la guía de la FDA proporcionan orientación global y detalles sobre los controles necesarios para la fabricación de productos farmacéuticos. Esto se debe a la necesidad de requisitos específicos para minimizar los riesgos de contaminación microbiológica por partículas y pirógenos en productos estériles (Dannemiller, Weschler, & Peccia, 2016).

Según la guía EU GMP, las salas blancas se dividen en cuatro grados (A - D) de acuerdo con la clase de limpieza ISO 14644 que cumplen (Tabla 3). La Organización Mundial de la Salud (OMS) también establece grados de limpieza recomendados para salas blancas, especialmente en la fabricación de vacunas (WHO, 2012). Aunque las directrices de la UE y la OMS se basan en los mismos principios, pueden diferir en ciertos detalles (Forterre, 2020).

Tabla 4 Clasificación de salas limpias y dispositivos de aire limpio según GMP EU

Grado	En reposo		En funcionamiento	
	0,5 µm	5 µm	0,5 µm	5 µm
A	3.520	20	3.520	20
B	3.520	29	352.000	2.900
C	352.000	2.900	3.520.000	29.000
D	3.520.000	29.000	Sin definir	Sin definir

Nota: La clasificación se realiza según la GMP EU en función de la norma ISO 14644-1. Número máximo de partículas de tamaño igual o superior al indicado en la tabla permitido por m³ (GMP, 2009).

Tabla 5 Equivalencias ISO 14644-1, grado GMP y Estándar Federal 209

GMP(UE)	ISO 14644-1 (Internacional)	Estándar Federal 209 (EEUU)	
		209D (imperial)	209E (métrico)
-	Clase ISO 1	-	-
-	Clase ISO 2	-	-
-	Clase ISO 3	Clase 1	M 1.5
-	Clase ISO 4	Clase 10	M 2.5

Grado A / B	Clase ISO 5	Clase 100	M 3.5
-	Clase ISO 6	Clase 1000	M 4.5
Grado C	Clase ISO 7	Clase 10000	M 5.5
Grado D	Clase ISO 8	Clase 100000	M 6.5
-	Clase ISO 9	-	-

Nota: Equivalencias ISO 14644-1: 2015 y su grado GMP y Estándar Federal, para la clasificación de salas blancas o limpias (Bhangar, y otros, 2015).

Para supervisar la limpieza microbiológica de los grados A - D durante las operaciones, es esencial llevar a cabo un monitoreo regular de las áreas limpias. Durante las operaciones asépticas, este monitoreo debe realizarse con frecuencia utilizando métodos como placas de sedimentación, muestreo volumétrico de aire y técnicas de muestreo de superficies, como hisopos y placas de contacto. Además, es crucial establecer niveles de detección de contaminación microbiana para definir límites de alerta y acción (WHO, 2011).

La Tabla 5 presenta los valores recomendados para la carga microbiana en salas limpias en funcionamiento (GMP, 2017; GMP, 2009). Se ha producido un cambio en el límite para el grado A según las Buenas Prácticas de Fabricación de la Unión Europea, que ha pasado de 1 UFC a "sin crecimiento"

Tabla 6 Límites microbiológicos recomendados según la EU GMP Anexo 1.^a

Grado	Muestra de aire (UFC / m³)	Platos de sedimentación (diámetro 90 mm) (UFC / 4 horas)^b	Placas de contacto (diámetro 55 mm) (UFC / placa)
A**	<1	<1	<1
B	10	5	5
C	100	50	25
D	200	100	50

Nota: Límites recomendados y expresados en unidades formadoras de colonias (UFC) para cada grado para el monitoreo microbiológico de la contaminación microbiana del aire de salas limpias en operación.

La Farmacopea de los Estados Unidos (USP) <1116> orientada al control microbiológico y monitoreo de entornos de procesamiento aséptico propone medir la

contaminación microbiana basándose en tasas de recuperación en lugar de la tradicional enumeración de unidades formadoras de colonias (UFC) (Blevis & Bronze, 2009). Este enfoque busca establecer una armonización entre las autoridades estadounidenses, europeas y japonesas para evitar discrepancias en los límites microbianos (PDA, 2015).

La USP adopta la frecuencia de detección de contaminación en lugar de centrarse en los números absolutos de UFC encontrados en una sola muestra. Además, se destaca que una UFC no proporciona una enumeración directa de los microorganismos presentes, ya que puede originarse a partir de un grupo de organismos. Se espera que, dentro de la zona crítica ISO 5, los métodos actuales permitan alcanzar tasas de recuperación de contaminación del aire y de las superficies del 1 % o menos (Tabla 6). La tasa de incidentes se refiere a la frecuencia con la que se detecta contaminación microbiana en las muestras ambientales. Por ejemplo, una tasa de incidentes del 1 % indica que solo el 1 % de las muestras contiene alguna contaminación, independientemente del número de colonias. En otras palabras, el 99 % de las muestras tomadas está completamente libre de contaminación (USP, 2012).

Tabla 7 Tasas de recuperación de contaminación inicial sugeridas en entornos asépticos

Clasificación de sala	muestra de aire activa (%)	Placa de sedimentación (9cm) exposición 4 h (%)	Placas de contacto (%)
Aislado (ISO 5 o mejor)	<0.1	<0.1	<0.1
ISO5	<1	<1	<1
ISO6	<3	<3	<3
ISO7	<5	<5	<5
ISO8	<10	<10	<10

Nota: Estas recomendaciones se aplican en entornos clasificados donde operadores se visten o usan batas asépticas. Debería ser necesaria una acción cuando la tasa de recuperación de la contaminación está por encima de estas recomendaciones durante un tiempo significativo.

Según el manual NHB 5340 de la NASA, aproximadamente 1 de cada 1000 partículas con un tamaño $\geq 0.5 \mu\text{m}$ lleva consigo 1 UFC. Además, los científicos suecos Bengt Lungquist y Berit Reinmüller han demostrado que la proporción de partículas con tamaños $\geq 0.5 \mu\text{m}$ en relación con la concentración de UFC es de aproximadamente 1500 ± 500 , cifra similar a la proporcionada por la NASA (Berman, 2018).

Sin embargo, al comparar estos datos con las normas de Buenas Prácticas de Manufactura (GMP) de la Unión Europea (UE), se observa que el límite establecido para el grado A (ISO 5) es de $3520 \text{ partículas/m}^3 \geq 0,5 \mu\text{m}$. En consecuencia, se espera una concentración de microorganismos en el aire de $3520 / 1000 = 3,5 \text{ UFC/m}^3$. Asimismo, el límite ISO clase 4 para partículas es de $352 \text{ partículas/m}^3 \geq 0,5 \mu\text{m}$, con una estimación de UFC de $352 / 1000 = 0,35 \text{ UFC/m}^3$ (Dhand & Li, 2020).

Capítulo III: Marco metodológico

3.1 Tipo y diseño de investigación

El laboratorio de análisis clínico-microbiológico de la Dirección Hospitalaria de la Policía Guayaquil N°2 es un espacio donde se llevan a cabo diversos procedimientos, incluyendo el procesamiento, exámenes y análisis de muestras biológicas provenientes de distintas áreas del hospital. Estas muestras son recolectadas previamente de pacientes que visitan el hospital a diario. El servicio opera de manera continua, atendiendo de lunes a domingo. Además, cuenta con personal de limpieza cuyos horarios abarcan las 24 horas del día, asegurando la limpieza en todas las áreas del laboratorio.

El laboratorio está compuesto por seis cubículos que abarcan diversas áreas, desde la atención a pacientes y toma de muestras hasta la siembra y manejo de las mismas. Además, incluye una oficina exterior para funciones administrativas, como la jefatura y la secretaría. También cuenta con un espacio interno destinado a la preparación de medios de cultivo, una zona para el aseo, la recolección de desechos y la limpieza

general, así como áreas específicas para la cadena de frío, camerino y servicio higiénico.

Es importante destacar que ningún plan de control y muestreo puede garantizar con total precisión la presencia o ausencia de contaminación microbiana, incluso en presencia de una contaminación considerable. La falta de crecimiento simplemente indica que no se detectó un crecimiento específico esperado, pero no asegura que el ambiente muestreado esté completamente libre de contaminación (USP, 2012). Para evaluar el nivel de contaminación microbiana del aire y los entornos estudiados, se empleará el muestreo pasivo, también conocido como técnica de sedimentación por gravedad o, en algunos casos, referido como el método de placa abierta o sedimentación de Koch.

Por ende, basándonos en estos principios de seguridad y asepsia, es imperativo contribuir a la formación del personal en conocimientos relacionados con los principios de microbiología. Esto se fundamenta en la obligación de trabajar en entornos controlados, también conocidos como salas blancas, cuyo propósito es garantizar un nivel adecuado de calidad ambiental. Esto no solo proporciona seguridad a quienes trabajan en estos espacios físicos, sino que también asegura la confiabilidad de los resultados obtenidos a partir de las muestras analizadas en dichos entornos. Para este estudio en particular, se utilizará un diseño observacional, que es un tipo de diseño cuantitativo no experimental.

A diferencia de otros diseños de investigación experimental, en ocasiones el investigador tiene la posibilidad de manipular una o varias variables, especialmente las independientes, para observar los posibles efectos que se produzcan. En este caso, el investigador que lleva a cabo el estudio observacional analiza tanto las variables independientes como las dependientes, registrando como resultado los efectos que se generan durante su desarrollo (USP, 2012).

3.2 La población y la muestra

3.2.1 Características de la población

En relación con la investigación de las condiciones ambientales que debe cumplir, en nuestro caso de estudio, el servicio de laboratorio clínico microbiológico de la Dirección Hospitalaria Guayaquil, se busca verificar si dichas instalaciones se encuentran en condiciones adecuadas, especialmente en términos de iluminación, temperatura y humedad óptimas. Además, se busca confirmar las condiciones de asepsia en cada una de las secciones que conforman el laboratorio, abarcando así toda el área de este nosocomio.

Además de esto, se llevará a cabo un análisis de la ventilación interior, la cual forma parte de las condiciones medioambientales, y se buscará determinar la eficiencia de su sistema de climatización y extracción de aire. A través de la gestión observacional in situ, se observa que los extractores de aire ubicados en el techo y a los laterales de las instalaciones departamentales extraen y filtran el aire antes de desecharlo al ambiente externo.

Sin embargo, es importante señalar que el actual sistema de extracción de aire carece de filtros especializados, lo que hace que su sistema de climatización expulse el aire a través de difusores de aire simples hacia el ambiente externo. Es relevante mencionar que no se identifica una generación limpia de aire ni ozonificación, lo que lleva a que el aire interno simplemente recircule de un área a otra (Villamar, 2009).

3.2.2 Delimitación de la población

Según la recopilación y análisis de la información relacionada con la distribución del área y todo lo referente al espacio físico del laboratorio de análisis clínico microbiológico de esta unidad hospitalaria, se llevará a cabo el respectivo levantamiento con el respaldo del departamento de infraestructuras.

Este proceso permitirá la creación de un plano dimensional que nos posibilitará establecer los puntos de muestreo más apropiados, de acuerdo con los parámetros

definidos por la Norma ISO 14644. Específicamente, a partir de este plano se delinearán los puntos más adecuados para el muestreo y se establecerán las condiciones particulares que se considerarán al tomar las respectivas muestras.

3.2.3 Tipo de muestra

En el contexto de un análisis medioambiental para determinar la presencia de microorganismos como bacterias y hongos, la elección del medio de cultivo juega un papel crucial. Se pueden utilizar medios de cultivo selectivos y no selectivos, cada uno diseñado con la finalidad de recuperar tipos específicos de microorganismos. Es importante destacar que antes de la toma de muestras, se debe analizar la idoneidad de cada medio para respaldar el crecimiento de los microorganismos que se aislarán. Dado que estos microorganismos son desconocidos para los investigadores, se requiere un cuidadoso proceso de selección del medio más adecuado que garantice un aislamiento eficaz durante la toma de muestras.

La preparación de los medios de cultivo debe llevarse a cabo en condiciones de seguridad y asepsia, cumpliendo con las normativas ISO para la calidad de laboratorios de análisis clínico. Esto implica contar con un área específica para la preparación de medios. Se recomienda el uso de medios de cultivo comunes, como el agar soya tripticasa (agar a base de soya y caseína), así como el agar dextrosa Sabouraud, que actúa como un medio no selectivo para el aislamiento de bacterias y hongos, respectivamente.

3.2.4 Tamaño de la muestra

Con el objetivo de establecer un protocolo objetivo para el adecuado muestreo de aire y las condiciones medioambientales en un entorno que debe mantenerse estéril o libre de microorganismos, especialmente aquellos considerados patógenos, este estudio busca, de manera independiente y de acuerdo con su dimensión física, identificar y distribuir los puntos de muestreo más apropiados. De esta manera, se pretende evaluar de manera efectiva la calidad del aire. La definición de estos puntos

se llevó a cabo considerando los criterios establecidos en la norma ISO 14644-1, centrándose específicamente en el método de "sobre o envoltente", tal como se describe en dicha norma.

La determinación del número de puntos de muestreo y su ubicación seguirá los criterios establecidos en la Norma ISO. En consecuencia, se identificarán un total de 9 puntos específicos que aseguren un muestreo óptimo y abarquen la mayor dimensión física del departamento bajo estudio (Quiroz, 2012).

3.2.5 Proceso de selección de la muestra

Dado que el laboratorio de análisis clínico-microbiológico abarca una superficie de aproximadamente 140 m², se considera apropiado llevar a cabo el muestreo en cada una de las secciones que conforman este departamento, asignándoles una numeración para orientación y reconocimiento.

Asimismo, se mide el área de cada sección, según se detalla en las tablas adjuntas, para establecer un número óptimo de puntos de muestreo conforme a los estándares internacionales estipulados en la Normativa ISO.

La recolección de muestras se realizará en horarios predeterminados, considerando los momentos de mayor afluencia de personal (07:00 am – 11:00 am). Además, se registrarán ciertos parámetros ambientales, como la humedad relativa interior (RH) y la temperatura ambiental, en cada sección muestreada. Para estas mediciones, se empleará un termo higrómetro especializado, garantizando así el cumplimiento de las normativas de calidad de laboratorios.

Cada procedimiento y sus registros correspondientes especificarán los puntos de muestreo, la hora del muestreo, la duración del proceso, el método de muestreo, la frecuencia y cualquier observación relevante (Jara, 2018).

No se dispone de literatura que respalde técnicas de muestreo capaces de demostrar con precisión la ausencia de contaminación microbiana, ya que la falta de crecimiento solo indica que no se detectó dicho crecimiento, no garantizando la ausencia total de

contaminación en el entorno analizado (USP, 2012). Para evaluar la presencia de contaminación microbiana en el ambiente, se optará por la técnica de sedimentación por gravedad, también conocida como método de sedimentación de Koch, como se detalló anteriormente.

3.2.6 Los métodos y las técnicas

De acuerdo con la determinación basada en el área física que engloba el laboratorio clínico microbiológico en esta unidad hospitalaria, se ha establecido que el número de muestras a recopilar será equivalente a los 9 puntos identificados, coincidiendo con las ubicaciones de los 9 cubículos que integran dicho departamento. Esto facilita un mejor control durante el estudio y simplifica la toma de muestras para el analista. Para obtener valores preliminares, se sugiere el empleo de un contador de partículas, aunque no sea un método específico para evaluar la calidad del aire. Estos resultados preliminares se considerarán como puntos de referencia durante el muestreo real.

Es relevante destacar que existen pocos estudios, especialmente de carácter internacional, que proporcionan una guía detallada sobre una metodología estandarizada para determinar el número exacto de muestras y la frecuencia de muestreo ambiental o de aire. Esto se debe a que cada estudio puede presentar variaciones no solo debido a sus dimensiones físicas o secciones dentro de los departamentos, sino también por las condiciones medioambientales específicas y la cantidad diaria de muestras analizadas en esos entornos (Quiroz, 2012).

Para este estudio, se utilizará la técnica de análisis conocida como el método de Koch, el cual implica la exposición de placas de Petri, previamente cargadas con un agar nutritivo específico, para evaluar la presencia microbiana y así respaldar la presunta contaminación del área que debe mantenerse estéril.

Los microorganismos presentes en el aire se depositan en las placas de Petri debido a la acción gravitacional. Al emplear esta técnica de análisis, se puede determinar e identificar los microorganismos presentes, ya sean bacterias o hongos.

En caso de que se observe algún tipo de crecimiento de microorganismos en las placas, se utilizará el recuento de UFC (Unidades Formadoras de Colonias) como unidad de medida. Esto permitirá cuantificar los microorganismos vivos presentes y estimar su capacidad de crecimiento y reproducción. Es esencial señalar que una UFC puede consistir en un solo microorganismo, un par o varios de ellos agrupados, representando estadísticamente un microorganismo o varios microorganismos, pero contabilizados como una sola UFC.

El Estándar de Procedimientos Operativos de los Estados Unidos (SOP) aborda la necesidad de definir los supuestos o escenarios relacionados con el muestreo de aire, considerando si este se llevó a cabo con una frecuencia típica, en el peor caso posible o en una única ocasión. En el contexto de este estudio, las condiciones de muestreo se ajustaron al escenario de "peor caso", ya que las muestras se recopilaban durante el período de mayor dinámica e intensidad laboral, que abarcó desde las 07:00 am hasta las 11:00 pm. Además, se consideraron condiciones de "una sola vez", ya que se presentó la oportunidad de realizar la toma de muestras en un único periodo corto (WHO, 2012).

El periodo planificado para la recolección de muestras, específicamente de los 9 puntos de muestreo seleccionados, fue distribuido a lo largo de tres días consecutivos, realizando la toma de muestras una vez al día. En consecuencia, el total de muestras recopiladas durante los tres días programados fue:

$$3 \text{ días} \times 1 \text{ período} \times 9 \text{ puntos de muestreo} = 27 \text{ muestras};$$

La estrategia consiste en identificar y analizar tanto bacterias como hongos utilizando diferentes placas de Petri con distintos medios de cultivo. Este enfoque resulta en un tamaño de muestra considerablemente mayor al llevar a cabo los análisis de manera individual, generando un total de 54 muestras (27 para bacterias y 27 para hongos). Aunque las normativas ISO sugieren una exposición al ambiente de 50-60 minutos, en este estudio las placas se expondrán durante el doble de tiempo, es decir, entre 100 a 120 minutos.

Este prolongado período tiene como objetivo maximizar la captura de unidades

formadoras de colonias (UFC). Las placas se ubicarán estratégicamente en los puntos de muestreo, especialmente en superficies planas (USP, 2012).

Comparando con las directrices de las Buenas Prácticas de Manufactura (GMP) de la Unión Europea (UE), se sugiere que las placas de sedimentación podrían exponerse durante un periodo de hasta cuatro horas, basándose en la experiencia que indica que períodos prolongados de exposición contribuyen a capturar un mayor número de microorganismos. Se ha observado que cuando se exponen durante cuatro a cinco horas, estas placas proporcionan niveles más aceptables para evaluar si un objeto de análisis está seguro y libre de microorganismos (USP, 2012).

Para realizar adecuadamente la toma de muestras, se aconseja etiquetar las placas de Petri con números arábigos, indicar el lugar donde se llevó a cabo el muestreo, diferenciar el medio de cultivo utilizado y registrar el período de exposición de cada muestra. Siguiendo los criterios de muestreo establecidos, que en este caso involucran nueve puntos específicos, una vez que las cajas de Petri se han expuesto durante aproximadamente cuatro horas, se deben tapar cuidadosamente y colocar en una incubadora en condiciones aeróbicas a una temperatura de 35,4°C durante un período de 48 a 72 horas, preferiblemente. Posteriormente, se realiza el conteo de las unidades formadoras de colonias, y se emite un resultado en términos de UFC totales.

Para calcular el número total de microorganismos presentes en el aire o en el entorno de interés utilizando el método de sedimentación de Koch, se realiza la determinación exclusiva de las colonias que han crecido en las placas de Petri, y el cálculo se lleva a cabo conforme a la regla de L.V (RedPARF, 2013).

3.2.7 Procesamiento estadístico de la información

Después de recuperar y cuantificar las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en la superficie de los medios de cultivo de las placas de Petri, incubadas a 35,4 °C durante 48 horas, se lleva a cabo la identificación de las bacterias y hongos presentes en dichos medios. En el caso de las bacterias, se inició observando las características macroscópicas de todas las colonias, seguido por el examen de las características

microscópicas mediante la tinción de Gram (Villamar, 2009).

Se llevaron a cabo análisis bioquímicos para identificar los tipos de bacterias recolectadas. Respecto a los hongos, se observaron las características macroscópicas y fenotípicas de las colonias, y se aplicó una tinción de azul de lactofenol junto con claves de identificación para examinar sus características microscópicas y lograr su identificación, es importante destacar que, en el proceso de identificación, se consideró inicialmente la patogenicidad clínica (Jara, 2018).

CAPÍTULO IV: Análisis e interpretación de resultados

4.1 Análisis de los resultados

Luego de incubar las placas Petri, se procedió a realizar lecturas a las 24 y 72 horas, observando las diversas colonias desarrolladas en los medios de cultivo tripticasa y Sabouraud, utilizados en esta investigación. Al analizar la recopilación de unidades formadoras de colonias obtenidas durante los días de muestreo, se observó que tanto la concentración de UFC/plato recuperado de bacterias como de hongos fue significativamente mayor en las áreas de limpieza y trabajo. Los resultados consolidados se presentaron como el número total de microorganismos en UFC/plato.

Tabla 8 Número de UFC de bacterias obtenidas en cada día de muestreo por habitación

N°	Habitación	Bacterias (UFC / plato)			
		Día 1	Día 2	Día 3	Media
1	Área administrative	33	26	25	28
2	Área de preparaciónde medios	14	11	8	11
3	Área de limpieza	100	36	30	55,3
4	Área fría	0	0	0	0
5	Área de trabajo	243	204	210	219
6	Área Vitek2	6	4	5	5
7	Área de biología molecular	24	17	19	20
	Total	420	298	297	338,3

Realizado por: autores

Tabla 9 Número de UFC de hongos obtenidas en cada día de muestreo por habitación

N°	Habitación	Hongos (UFC / plato)			
		Día 1	Día 2	Día 3	Media
1	Área administrative	3	4	3	3,33
2	Área de preparaciónde medios	2	2	0	1,33
3	Área de limpieza	6	5	7	6
4	Área fría	0	0	0	0
5	Área de trabajo	15	17	11	14,33
6	Área Vitek2	0	0	1	0,33
7	Área de biología molecular	0	0	0	0
Total		26	28	22	25,32

Realizado por: autores

Nota: Los hongos también se desarrollaron en el agar tripticasa (medio de cultivo para bacterias).

Tabla 10 Número de microorganismos totales expresados en UFC / 4 horas o UFC / plato.

N°	Habitación	Bacterias	Hongos	Microorganismo stotales
		UFC / plato UFC / 4 horas	UFC / plato UFC / 4 horas	UFC / plato UFC / 4 horas
1	Área administrative	28	3,33	31,33
2	Área de preparación demedios	11	1,33	12,33
3	Área de limpieza	55,3	6	61,3
4	Área fría	0	0	0
5	Área de trabajo	219	14,33	233,33
6	Área Vitek2	5	0,33	5,33
7	Área de biología molecular	20	0	20

Realizado por: autores

Recálculo de Omeliansky en volumen de aire

Se puede medir la cantidad de bacterias y hongos presentes en el aire mediante la cuantificación de colonias, expresándolas en unidades formadoras de colonias por metro cúbico (UFC/m³) utilizando la fórmula de Omeliansky. Los resultados revelaron que las habitaciones designadas como área de trabajo y área de limpieza contienen la mayor concentración de UFC, tanto de bacterias como de hongos, por cada metro cúbico de aire.

Tabla 11 *Cálculo del número de bacterias y hongos por m³ según la regla de V.L Omeliansky*

N°	Habitación	Bacterias		Hongos	
		UFC / plato	UFC / m ³	UFC / plato	UFC / m ³
1	Área administrativa	28	92	3,33	11
2	Área de preparación demedios	11	36	1,33	4
3	Área de limpieza	55,3	181	6	20
4	Área fría	0	0	0	0
5	Área de trabajo	219	717	14,33	47
6	Área Vitek2	5	16	0,33	1
7	Área de biología molecular	20	65	0	0

Realizado por: autores

Nota: Los cálculos se realizaron para un tiempo de exposición de 4 h o 240 min y un diámetro de placa Petri de 90 mm. Además, se tomaron valores enteros para el resultado de UFC / m³. Recuento microbiano total de UFC por m³ de aire.

La comparación del recuento total de microorganismos entre las áreas analizadas indica que la mayor concentración de hongos y bacterias recolectados durante el estudio se encuentra en las zonas designadas como área de trabajo y área de limpieza. Para evaluar el grado de contaminación ambiental de acuerdo con las

normativas vigentes, se inicialmente determinó el recuento microbiano total en el aire. Se observó que el área de trabajo presenta la carga microbiana más elevada.

Tabla 12 Número total microbiano o recuento microbiano total de UFC por m³ de aire

N°	Habitación	Número total Bacterias UFC / m ³	Número total Hongos UFC / m ³	Número total de microbios UFC / m ³
1	Área administrativa	92	11	103
2	Área de preparación de medios	36	4	40
3	Área de limpieza	181	20	201
4	Área fría	0	0	0
5	Área de trabajo	717	47	764
6	Área Vitek2	16	1	17
7	Área de biología molecular	65	0	65
Total		1107	83	1190

Realizado por: autores

Al contrastar la cantidad total de microorganismos en UFC/plato con el recuento microbiano total en UFC/m³, se evidencia que la distribución de la concentración microbiana inicial en UFC/plato permanece inalterada al realizar el cálculo en m³ mediante la fórmula de Omelyansky. En este contexto, el área de trabajo continúa siendo la más contaminada, seguida por el área de limpieza, área administrativa, área de biología molecular, área de preparación de medios, área Vitek2 y área fría, según se ilustra en la tabla. Es decir, el recálculo amplificó y correlacionó los valores iniciales.

Expresión de la tasa de incidencia de contaminación microbiana del aire

También se examinó la contaminación microbiana conforme a los criterios de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), la cual se centra en la frecuencia de detección de contaminación microbiana en lugar de la cuantificación de UFC en cada muestra. Es decir, la tasa de incidencia se evalúa independientemente del número de colonias. Se registró una tasa de incidencia del 90,91% para bacterias, lo que significa

que el 90,91% de las muestras recolectadas presentan algún grado de contaminación bacteriana.

Es relevante señalar que en este contexto no se cuentan las colonias obtenidas por plato, sino los platos Petri con colonias bacterianas. En este escenario, el 9,09% de las muestras recopiladas estuvieron completamente libres de contaminación bacteriana. Asimismo, en el caso de los hongos, la tasa de incidencia fue del 72,73%, menor que la tasa de incidencia bacteriana, lo que indica que el 27,27% de las muestras en Sabouraud no presentaron contaminación fúngica.

Tabla 13 *Tasa de incidencia de contaminación microbiana*

Microorganismo	Placas contaminadas / placas totales	Tasa de incidencia (%)
Bacterias	30/33	90,91
Hongos	24/33	72.73

Realizado por: autores

La tasa global de incidencia para hongos se sitúa en un 62,12%, indicada por la proporción 41/66. Esto se debe a que numerosos hongos también se desarrollaron en el medio de cultivo tripticasa originalmente diseñado para bacterias. En contraste, en el caso de las bacterias y el medio Sabouraud, la tasa general de incidencia sería del 45,45%, equivalente a 30/66.

Microaeroflora identificada en los ambientes interiores

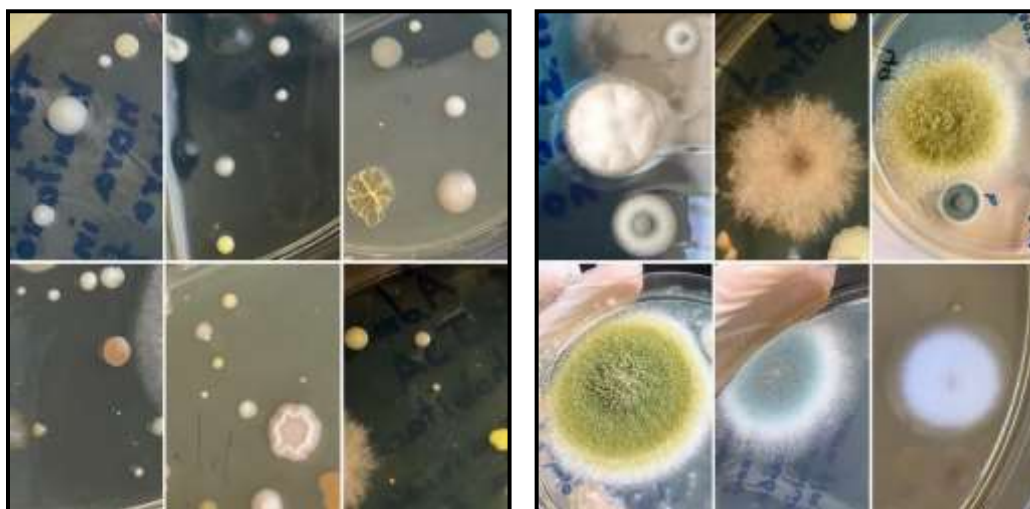
Las identificaciones microbianas abarcaron dos conjuntos de bacterias y seis de hongos que estuvieron presentes en la mayoría de las habitaciones sujetas a muestreo. Se observaron diversas morfologías bacterianas, como cocos y bacilos. Además, todas las bacterias identificadas fueron mesófilas aerobias Gram positivas, coagulasa negativas y manitol negativas. Para continuar con el proceso de identificación, se evaluó en primer lugar si cumplían con los requisitos clínicos patógenos como, por ejemplo, los estafilococos coagulasa negativos (CoNS).

Tabla 14 *Microorganismos identificados en el laboratorio clínico microbiológico*

Microorganismo	Identificación
Bacterias	<i>Bacillus</i> spp. Estafilococos coagulasa negativos.
Hongos	<i>Aspergillus fumigatus</i> . <i>Aspergillus flavus</i> . <i>Aspergillus</i> sp. <i>Alternaria</i> sp. <i>Scopulariopsis</i> sp. <i>Paecilomyces</i> sp. <i>Penicillium</i> sp. <i>Candida</i> sp.

Realizado por: autores

Figura 1 *Observación macroscópica de UFC de bacterias y hongos recolectados*



Realizado por: autores

Nota: a) Colonias bacterianas desarrolladas en agar tripticasa de soja, b) Colonias de hongos filamentosos o mohos crecidos en agar dextrosa Sabouraud (SDA). Cabe destacar que también hubo hongos presentes en el agar destinado al cultivo de bacterias.

4.2 Interpretación de los resultados

De acuerdo con Xu (2014), la fórmula de Omeliansky para la recalibración de la concentración de microorganismos en volumen de aire no es precisa. No obstante, cabe destacar que esta recalibración no modificó los recuentos de UFC/plato; por el contrario, los amplificó al convertirlos matemáticamente en UFC/m³. Además, el orden de la carga o contaminación microbiana de las áreas analizadas, de mayor a menor, no experimentó cambios, es decir, se correlacionado.

La cantidad total de bacterias y hongos registrada en las áreas del Laboratorio de Microbiología de la Dirección Hospitalaria Guayaquil fue de 1107 UFC/m³ y 83 UFC/m³ respectivamente. La mayor concentración de microorganismos se encontró en el área de trabajo, con un total de 764 UFC/m³.

Este fenómeno se explica principalmente en los seres humanos emiten bioaerosoles a través de la respiración, la ropa, la piel, además de un operador correctamente vestido en un entorno controlado libera constantemente microorganismos al aire (USP, 2012).

Prussin & Marr (2015) sostienen que la resuspensión de polvo sedimentado, como la que ocurre al caminar, constituye una fuente significativa de microorganismos. Este efecto podría haberse magnificado en el área de trabajo, dado que es la de mayor tamaño, lo que implica una mayor superficie de contacto entre el suelo y las personas que transitan por ese espacio. Además, de acuerdo con las pautas de la USP (1116) (2012), RedPARF (2013) e ISO-14698 (2003), el muestreo se llevó a cabo durante periodos de alta actividad laboral en el laboratorio, donde el personal estaba en constante movimiento.

Es relevante destacar que el área de trabajo desempeña un papel crucial y convergente con otras áreas, ya que en este lugar se procesan las muestras biológicas recibidas de diversas secciones del hospital. También incluye tres subáreas no delimitadas: el área de diagnóstico, el área de microscopía y el área de tinción. En contraste, el área fría, el área Vitek2 y el área de preparación de medios exhibieron la menor concentración de microorganismos totales, con menos de 40

UFC/m³. Aunque Dang et al. (2020) señalan que las actividades humanas generan bioaerosoles, esta menor concentración podría deberse a que estos son espacios más reducidos con funciones específicas y donde la permanencia del personal es temporal.

Las normas internacionales que ofrecen pautas para la evaluación microbiológica del aire mediante el método de sedimentación son escasas y no se adaptan precisamente a una variedad de entornos a evaluar. Sin embargo, estas normas sirven como puntos de referencia que permiten objetivar el presente estudio.

Algunas de ellas incluyen las Buenas Prácticas de Manufactura (GMP) de la Unión Europea (UE), USP <1116>, FDA, EUR 14988 EN y SAMPSP, las cuales generalmente se centran en salas limpias o áreas controladas, entornos estériles y procesos de fabricación aséptica. Aunque un entorno hospitalario no necesariamente se opone a una sala limpia, Murray & Durner (2020) indican que, en las nuevas normas, como la EN 17141, ciertos entornos hospitalarios se consideran como entornos controlados. Por lo tanto, estas normas mencionadas sirven como buenos puntos de referencia.

Los estándares de la Agencia Europea de Protección - EUR 14988 EN, según la ECA (1993), establecen categorías de contaminación de partículas biológicas en el aire. Aunque no abordan específicamente entornos hospitalarios, sirven como referencia para ambientes interiores.

A partir de esta norma, se determinaron los niveles de contaminación microbiológica, donde se observa que el área de trabajo se clasifica como de contaminación alta, mientras que el área de limpieza y el área administrativa se ubican en la categoría de contaminación intermedia.

Estos niveles de contaminación microbiológica concuerdan con los establecidos por las directrices de la SAMPSP (2016) para la calidad del aire en entornos hospitalarios. En este contexto, tanto el área de trabajo como el área de limpieza sobrepasan los límites permitidos para ser considerados ambientes aceptables, superando también el nivel de acción. Incluso el área administrativa, clasificada como un ambiente

aceptable, se encuentra dentro del rango del nivel de alerta, indicando la necesidad de tomar medidas preventivas para evitar alcanzar el nivel de acción. Las demás áreas fueron calificadas como de contaminación baja, contaminación muy baja, ambientes limpios o ambientes muy limpios según las pautas de la norma.

Es esencial señalar que, según Gottlieb (2015), el nivel de acción representa un nivel de alerta que requiere intervención inmediata, investigación y acciones correctivas cuando se supera. Asimismo, el nivel de alerta actúa como una advertencia temprana de desviaciones de las condiciones normales.

De acuerdo con Pepper & Gerba (2015), las bacterias Gram positivas demuestran una mayor tolerancia al estrés por desecación en comparación con las bacterias Gram negativas, las cuales tienden a reaccionar de manera desfavorable ante dicho estrés. Esto podría explicar por qué, en los resultados obtenidos en este estudio, todas las bacterias identificadas fueron Gram positivas.

Se registraron estafilococos coagulasa negativos (CoNS), y según Becker et al. (2014), la definición de CoNS se basa en procedimientos de diagnóstico que cumplen con la necesidad clínica de diferenciar entre *Staphylococcus aureus* y aquellos estafilococos clasificados como menos o no patógenos.

Además, según Michels et al. (2021), los CoNS son bacterias que se recuperan con frecuencia en la atención clínica de rutina, siendo a menudo consideradas como contaminantes en lugar de agentes causantes de infección. El estudio también identificó *Bacillus spp.*, y de acuerdo con Okamoto et al. (2020), las bacterias del género *Bacillus* son conocidas por formar esporas y son comunes en el entorno ambiental.

Conforme a Gu et al. (2019), la mayoría de las especies de *Bacillus* no son patógenas y muchas de ellas se han empleado en aplicaciones biotecnológicas e industriales. En este contexto, es relevante recordar la observación de Riley (1972): "la atmósfera cerrada del edificio del hospital y sus ocupantes humanos constituyen una unidad ecológica".

Según Popikhina (2013), las esporas fúngicas de *Penicillium* y *Aspergillus*, debido a su tamaño, están influenciadas por el movimiento Browniano, evitando su rápida sedimentación. Sin embargo, en la mayoría de las áreas del laboratorio microbiológico, se identificó la presencia de estos dos géneros de hongos después de exponer las placas de Petri durante cuatro horas. Se reconoció también la presencia del hongo *Alternaria* spp., en concordancia con Nunes (2005), quien a menudo detectó este género en el aire de instalaciones hospitalarias.

Además, en el presente estudio se identificó *Aspergillus fumigatus*, coincidiendo con Fernández et al. (2013), quienes informan su presencia en entornos hospitalarios y señalan que puede causar infecciones nosocomiales, principalmente en pacientes inmunodeprimidos. El género *Penicillium* fue encontrado con frecuencia en el laboratorio, y según Reboux et al. (2019), *Penicillium* es uno de los géneros más comunes de hongos de moho identificados en muestras de aire interior, siendo un agente etiológico de rinitis y asma en niños.

Según Senthilkumar et al. (2020), *Paecilomyces* es un hongo filamentoso saprófito ampliamente distribuido que suele aislarse comúnmente como contaminante en el aire de laboratorio y puede ser una fuente de infecciones en seres humanos; este hongo también fue identificado en el presente estudio.

En cuanto a la levadura *Candida* spp., también encontrada en el laboratorio, es importante señalar que estas levaduras unicelulares se aíslan con mayor frecuencia en muestras como secreción vaginal, seguido en menor proporción por orina, secreción traqueal y uñas de las manos, y ocasionalmente en sangre.

Es relevante resaltar la afirmación de Tong et al. (2017), quienes destacan que los hongos transmitidos por el aire en entornos hospitalarios se consideran patógenos críticos en las infecciones asociadas a hospitales, lo que podría amenazar la vida de los pacientes.

Una vez conocidos los resultados de este estudio, se llevó a cabo una revisión detallada de las áreas examinadas, identificándose inconvenientes como extractores de aire fuera de servicio y difusores de aire con rendijas cerradas debido a la

preocupación del personal del laboratorio por la incomodidad causada por la entrada de aire relativamente frío.

Además, se inspeccionaron las superficies superiores de equipos y muebles, encontrándose una acumulación significativa de polvo, posiblemente debido a la dificultad de acceso que llevaba a que el personal de limpieza pasara por alto estas áreas. El polvo también se observó en paredes, marcos, relieves y vidrios de las ventanas, y el cielo raso mostraba signos de suciedad. Estos hallazgos evidencian la necesidad de un mayor control del ambiente y de la calidad del aire interior en entornos laborales.

Basándose en los resultados obtenidos, así como en los niveles de alerta identificados y las inspecciones llevadas a cabo en las áreas examinadas, el Laboratorio de Microbiología del Hospital Militar ha implementado las primeras medidas correctivas con el objetivo de reducir la carga microbiológica en el aire.

Estas medidas correctivas comprenden la apertura de las rendijas previamente cerradas de los difusores de aire, la disminución de la ventilación natural mediante el cierre de ventanas, el mantenimiento de puertas cerradas, la solicitud al departamento de mantenimiento de este nosocomio para impermeabilizar las paredes, una limpieza detallada del laboratorio microbiológico con la colaboración de la empresa de limpieza y la comunicación con la empresa responsable del mantenimiento del sistema de climatización y extracción de aire. Realizando una evaluación y mantenimiento del sistema, encargándose de desmontar y reemplazar el cielo raso de las habitaciones que integran el laboratorio microbiológico.

CAPÍTULO V: Conclusiones y Recomendaciones

5.1 Conclusiones

- Los resultados cuantitativos obtenidos del estudio donde mencionan que la tasa general de incidencia de contaminación microbiana sería del 45,45%, equivalente a 30/66 además que la cantidad total de bacterias y hongos registrada en las áreas del Laboratorio de Microbiología de la Dirección Hospitalaria Guayaquil fue de 1107 UFC/m³ y 83 UFC/m³ respectivamente. La mayor concentración de microorganismos se encontró en el área de trabajo, con un total de 764 UFC/m³; revelan que las áreas de trabajo y de limpieza del Laboratorio de Microbiología de la Dirección Hospitalaria Guayaquil presentan una carga microbiológica significativamente mayor en comparación con otras áreas, con una concentración promedio de bacterias y hongos por metro cúbico de aire que supera los estándares aceptables.
- La aplicación de la fórmula de Omeliansky para cuantificar la contaminación microbiana por metro cúbico de aire ha permitido identificar claramente que el área de trabajo es la más contaminada, seguida por el área de limpieza y el área administrativa, lo que sugiere una distribución desigual de la contaminación microbiológica dentro del laboratorio.
- Los resultados también muestran una alta tasa de incidencia de contaminación microbiana, especialmente de bacterias, en la mayoría de las áreas analizadas. Esto subraya la necesidad urgente de tomar medidas correctivas para reducir la carga microbiana en el aire y así mitigar el riesgo de infecciones nosocomiales.
- La identificación de microorganismos específicos, como *Bacillus* spp., estafilococos coagulasa negativos, *Aspergillus fumigatus* y *Penicillium* spp., confirma la presencia de potenciales patógenos nosocomiales en el ambiente del laboratorio, lo que enfatiza aún más la importancia de abordar la contaminación microbiológica.

- Se han identificado condiciones ambientales adversas, como extractores de aire fuera de servicio y rendijas cerradas en difusores de aire, que podrían contribuir al aumento de la carga microbiana en el aire. Estos hallazgos resaltan la necesidad de mejorar el mantenimiento de las instalaciones para garantizar un ambiente de trabajo seguro y saludable.

5.2 Recomendaciones

- Basándose en los resultados cuantitativos, se recomienda implementar medidas correctivas inmediatas para reducir la carga microbiológica en el aire, como la reparación de extractores de aire y la limpieza exhaustiva de todas las áreas del laboratorio.
- Se sugiere establecer un programa de monitoreo continuo de la calidad del aire en todas las áreas del laboratorio, utilizando técnicas de muestreo adecuadas y realizando análisis microbiológicos periódicos para evaluar la efectividad de las medidas correctivas implementadas.
- Es fundamental capacitar al personal del laboratorio en prácticas de higiene y control de infecciones para minimizar la dispersión de microorganismos y reducir el riesgo de infecciones nosocomiales.
- Se recomienda realizar evaluaciones regulares de la calidad del aire y revisar las medidas correctivas implementadas para garantizar su eficacia a largo plazo y realizar ajustes según sea necesario.
- Considerando los resultados cuantitativos, se debe evaluar la posibilidad de realizar cambios estructurales en el diseño del laboratorio para mejorar la circulación del aire y facilitar la limpieza de todas las superficies, con el fin de mantener un ambiente de trabajo limpio y seguro para todo el personal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ambrose, I., Nweke, C., Umeh, S., & Braide, W. (2015). Prevalence of bio-aerosols in the outdoor air environment in Uyo Urban, Akwa Ibom state, Nigeria. *International Research Journal of Microbiology*, 12-19. Recuperado el 23 de 01 de 2024, de <http://dx.doi.org/10.14303/irjm.2015.132>
- Awad, H., & Mawla, H. (2012). Sedimentation with the Omeliansky Formula as an Accepted Technique for Quantifying Airborne Fungi. *Pol. J. Environ. Stud.*, 1539-1541. Recuperado el 23 de 01 de 2024
- Badea, S., Chirita, A., Androne, C., & Olaru, B. (2015). Indoor air quality assessment through microbiological methods. *Journal of Young Scientis*, 12-17. Recuperado el 23 de 01 de 2024
- Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. (2014). Coagulase-Negative Staphylococci. *Clin Microbiol Rev.*, 870-926. Recuperado el 23 de 01 de 2024, de <https://doi.org/10.1128/CMR.00109-13>
- Berman, J. (2018). Chapter 9 - The Alternate Futures of Precision Medicine. *Precision Medicine and the Reinvention of Human Disease*, 327-365. Recuperado el 03 de 01 de 2024
- Bhangar, S., Adams, R., Pasut, W., Huffman, J., Arens, E., Taylor, J., & Nazaroff, W. (2015). Chamber bioaerosol study: human emissions of size-resolved fluorescent biological aerosol particles. *Indoor Air*, 193-206. Recuperado el 24 de 01 de 2024, de <https://doi.org/10.1111/ina.12195>.
- Blevis, S., & Bronze, M. (2009). Robert Koch and the 'golden age' of bacteriology. *International Journal of Infectious Diseases*, 744-751. Recuperado el 23 de 01 de 2024, de <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2009.12.003>
- Borrego, S., Lavin, P., Perdomo, I., Gomez, S., & Guiamet, P. (2012). Determination of Indoor Air Quality in Archives and Biodeterioration of the Documentary Heritage.

- International Scholarly Research Network microbiology*, 1-11. Recuperado el 15 de 01 de 2024, de <https://doi.org/10.5402/2012/680598>
- Botet, J. (2006). *II Congreso Egarense. "Legionella y Calidad del aire: el reto de hoy"*. Terrassa: STE. Recuperado el 23 de 01 de 2024
- Bragoszewska, E. (2019). Exposure to Bacterial and Fungal Aerosols: Microorganism Indices in A Waste-Sorting Plant in Poland . *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 1-11. Obtenido de <https://doi.org/10.3390/ijerph16183308>
- Bragoszewska, E., & Biedron, I. (2018). Indoor Air Quality and Potential Health Risk Impacts of Exposure to Antibiotic Resistant Bacteria in an Office Rooms in Southern Poland. Recuperado el 02 de 02 de 2024
- Brugge, S., Baumberger, C., Jost, M., Jenni, W., Brugger, U., & Mühlemann, K. (2012). Automated Counting of Bacterial Colony Forming Units on Agar Plates. *Plos One*, 1-6. Recuperado el 15 de 01 de 2024, de <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033695>
- Brusina, E., Chezganova, E., & Drozdova, O. (2020). Airborne transmission of hospital pathogens. *Fundamental and Clinical Medicine*, 97-103. Obtenido de <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2020-5-4-97-103>
- Caldeira, C., França, O., Lage, A., & Fernandes, I. (2012). Avaliação microbiológica da qualidade do ar de interiores: aspectos metodológicos e legais*. *Centro Universitário de Brasília*, 51-60. Recuperado el 23 de 01 de 2024, de <http://dx.doi.org/10.5102/ucs.v10i1.1656>
- Cernei, E., Maxim, M., Mavru, R., & Indrei, L. (2013). Bacteriological analysis of air (aeromicroflora) from the level of dental offices in Iași county. *Romanian Journal of Oral Rehabilitation*, 53-58. Recuperado el 18 de 01 de 2024

- Chanderraj, R., & Dickson, R. (2018). Rethinking pneumonia: A paradigm shift with practical utility. *PNAS*, 1-3. Recuperado el 21 de 01 de 2024, de <https://doi.org/10.1073/pnas.1819024116>
- Chaudhari, G., & Sarje, S. (2015). Clean Room Classification for Pharmaceutical Industry. l). *International Journal of Engineering and Technical Research (IJETR)*, 1-4. Recuperado el 12 de 01 de 2024
- Cincinelli, A., & Martellini, T. (2017). Indoor Air Quality and Health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 1-5. Recuperado el 12 de 01 de 2024, de <https://doi.org/10.3390/ijerph14111286>
- Condair. (2017). The importance of air humidification in hospitals and in outpatient settings. *Healthy Air Humidity*, 1-24. Recuperado el 23 de 01 de 2024
- Damit, B. (2013). Control of bioaerosols and volatile organic compounds with microwave and infrared radiation-based technologies. *University of Florida*, 1-186. Recuperado el 23 de 01 de 2024
- Dang, D., Vuong, H., Nguyen, T., & Phan, T. (2020). Microbiological contamination of indoor air in university classrooms (Case study: University of Science - Vietnam National University, Ho Chi Minh city). *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, 30-35. Recuperado el 23 de 01 de 2024
- Dannemiller, K., Weschler, C., & Peccia, J. (2016). Fungal and bacterial growth in floor dust at elevated relative humidity levels. *Indoor Air*, 1-10. Recuperado el 23 de 01 de 2024, de <https://doi.org/10.1111/ina.12313>
- Delikhoon, M., Guzman, M., Nabizadeh, R., & Baghani, A. (2021). Modes of Transmission of Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) and Factors Influencing on the Airborne Transmission: A Review. *International Journal of Environmental REsearch and Public Health*, 1-18. Recuperado el 23 de 01 de 2024
- Dhand, R., & Li, J. (2020). Coughs and Sneezes: Their Role in Transmission of Respiratory Viral Infections, Including SARS-CoV-2. *American Journal of*

Respiratory and Critical Care Medicine, 651-659. Recuperado el 23 de 01 de 2024, de <https://doi.org/10.1164/rccm.202004-1263PP>

Dumitrache, C., Frincu, M., Ila, S., & Godeanu, A. (2016). Evaluation of air and surfaces quality through microbiological methods case study – a2 student house. *Journal of Young Scientist*, 1-6. Recuperado el 23 de 01 de 2024

ECA. (1993). Biological Particles in Indoor Environments. *European Collaborative Action (ECA) EUR 14988 EN*, 1-86. Recuperado el 12 de 01 de 2024

Ekhaise, F., Isitor, E., Idehen, O., & Emoghene, A. (2020). Airborne Microflora in the Atmosphere of an Hospital Environment of University of Benin Teaching Hospital (UBTH), Benin City, Nigeria. . *World Journal of Agricultural Sciences* , 166-170.

FDA. (2004). Guidance for Industry-Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing Current Good Manufacturing Practice. *Food and Drug Administration*, 1-63. Recuperado el 23 de 01 de 2024

Fedotov, A. (2019). Regulatory Affairs Professionals Society. *FDA and EU GMP Annex 1 Differences in Cleanroom Specifications*. Obtenido de <https://www.raps.org/news-and-articles/news-articles/2019/7/fda-and-eu-gmp-annex-1-differences-in-cleanroom-sp>

Feldmann, D., & Müller, H. (2012). Comparison of EU GMP Guidelines with WHO Guidelines. *Internationale Zusammenarbeit (GIZ) GmbH*, 1-51. Recuperado el 23 de 01 de 2024

Ferguson, L., Taylor, J., Davies, M., Shrubsole, C., Symonds, P., & Dimitroulopoulou, S. (2020). Exposure to indoor air pollution across socio-economic groups in high-income countries: A scoping review of the literature and a modelling methodology. *Environment International*, 1-18. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105748>

Fernández, M., Cattana, M., Rojas, F., Sosa, M., Aguirre, C., Vergara, M., & Guisiano, G. (2013). Especies de *Aspergillus* en ambientes hospitalarios con pacientes

- pediátricos en estado crítico. *ELSEVIER*, 176-181. Recuperado el 23 de 01 de 2024, de <http://dx.doi.org/10.1016/j.riam.2013.09.007>
- FIRS. (2017). The Global Impact of Respiratory Disease. *Forum of International Respiratory Societies*, 1-43. Recuperado el 23 de 01 de 2024
- Forterre, P. (2020). Viruses in the 21st Century: From the Curiosity-Driven Discovery of Giant Viruses to New Concepts and Definition of Life . *Clinical Infectious Diseases*, 74-79. Obtenido de <https://doi.org/10.1093/cid/cix349>
- Ghosh, B., Lal, H., & Srivastava, A. (2015). Review of bioaerosols in indoor environment with special reference to sampling, analysis and control mechanisms. *Environment International*, 254-272. Recuperado el 23 de 01 de 2024, de <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.09.018>
- Gillen, A., & Sherwin, F. (2008). Louis Pasteur's Views on Creation, Evolution, and the Genesis of Germs. *Answers Research Journal*, 43-52. Recuperado el 23 de 01 de 2024
- GMP. (2009). Guía de Normas de Correcta Fabricación de la Unión Europea de Medicamentos de Uso Humano y Veterinario Anexo I Fabricación de medicamentos estériles. *Agencia Española de medicamentos y productos sanitarios*, 1-23. Recuperado el 23 de 01 de 2024
- GMP. (2017). EudraLex - The Rules Governing Medicinal Products in the European Union. *Guidelines on Good Manufacturing Practice specific to Advanced*, 1-90. Recuperado el 23 de 01 de 2024
- Goncharova, V., & Moskovkin, V. (2007). Сборник студенческих научных работ [Collection of student research papers]. *Белгородский государственный университет*, 1-134. Recuperado el 23 de 01 de 2024
- González, C. (2019). *Informe de rendición de cuentas*. Quito: HE-1. Recuperado el 22 de 01 de 2024

- GOST. (2017). Методы отбора и подготовки проб для химического [Sampling and preparation methods for chemical]. *Interstate council for standardization, metrology and certification госм 17.4.4.02*, 1-12. Recuperado el 23 de 01 de 2024
- Hayleeyesus, S., & Manaye, A. (2014). Microbiological Quality of Indoor Air in University Libraries. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 1-6. Recuperado el 23 de 01 de 2024, de <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014C807>
- Hazan, R., Que, Y., Maura, D., & Rahme, L. (2012). A method for high throughput determination of viable bacteria cell counts in 96-well plates. *BMC Microbiol*, 1-15. Recuperado el 23 de 01 de 2024, de <https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-259>
- Heitzmann, B. (2015). Challenges, considerations, and concerns of indoor air quality. *Pennsylvania housing research center*, 1-4. Recuperado el 22 de 01 de 2024
- Hesse, W. (1992). Walther and Angelina Hesse-Early Contributors to Bacteriology. *Features*, 1- 4. Recuperado el 22 de 01 de 2024
- Hospodsky, D., Qian, J., Nazaroff, W., Yamamoto, N., Bibby1, K., Risman, H., & Peccia, J. (2012). *Human Occupancy as a Source of Indoor Airborne Bacteria*. Plos One. Recuperado el 13 de 01 de 2024, de <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034867>
- Ilies, D., Onet, A., Wendt, J., Ilies, M., Timar, A., Ilies, A., & Herman, G. (2018). Study on microbial and fungal contamination of air and wooden surfaces inside of a historical Church from Romania. *Journal of Environmental Biology*, 980-984. Recuperado el 23 de 01 de 2024, de <http://doi.org/10.22438/jeb/39/6/MRN-658>
- Ingelyt. (2015). Categorías de salas blancas en cuanto a limpieza por partículas en el aire. *Ingelyt*, 1-3. Recuperado el 23 de 01 de 2024
- ISO 14644-1. (2015). Cleanrooms and associated controlled environments. *International Standard*, 1-44. Recuperado el 12 de 01 de 2024

- ISO-14698. (2003). Las salas blancas y ambientes controlados asociados-Control Biocontaminación Parte1. *Internacional Standard*, 1-24. Recuperado el 23 de 01 de 2024, de https://ccmpp.gsfc.nasa.gov/2019_presentations/Day-1/03_JKelly.pdf
- Jara, W. (2018). Ministerio de Salud Perú. Normas para clasificación de Salas Limpias. Recuperado el 22 de 01 de 2024, de https://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Establecimientos/Reuniones/Reunion_Tecnica/Reunion_II_2018/Salas_Limpias.pdf
- Ministerio de Salud Pública - MSP. (2018). *Acuerdo No. 00005212 (Se expide la tipología sustitutiva para homologar los establecimientos de salud por niveles de atención y servicios de apoyo del sistema nacional de salud)*. Quito: Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Recuperado el 22 de 01 de 2024
- Pasquarella, C., Pitzurra, O., & Savino, A. (2000). The index of microbial air contamination. *Journal of Hospital Infection*, 241-256. Recuperado el 11 de 01 de 2024, de <https://doi.org/10.1053/jhin.2000.0820>
- PDA. (2015). USP <1116> and its Implications for Measuring Microbial Recovery Rates . *Parenteral Drug Association*. Recuperado el 11 de 01 de 2024, de <https://www.pda.org/pda-europe/news-archive/full-story/2015/05/27/usp-1116-and-its-implications-for-measuring-microbial-recovery-rates>
- Pepper, I., & Gerba, C. (s.f.). Aeromicrobiology . *Environmental Microbiology*, 89-110. Recuperado el 22 de 01 de 2024, de <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394626-3.00005-3>
- Ponsoni, K., & Gonçalves, M. (2010). Indoor Air quality related to occupancy at an air-conditioned public building. *Brazilian archives of biology and technology*, 1-5. Recuperado el 22 de 01 de 2024, de <https://doi.org/10.1590/S1516-89132010000100013>
- Prathab, A., & Lalitha, C. (2012). Microbiological surveillance of air quality in operation theatres - comparison of the conventional settle plate techniques vs use of an air

- sampling device. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences*, 371-381. Recuperado el 12 de 01 de 2024
- Prussin, A., & Marr, L. (2015). Sources of airborne microorganisms in the built environment. *Microbiome*, 1-10. Recuperado el 11 de 01 de 2024, de <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0144-z>
- Quiroz, M. (2012). Manual de Procedimientos del Laboratorio Docente de Microbiología Clínica en Base a la Normativa ISO 9001:2008 . Recuperado el 11 de 01 de 2024, de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/972>
- RedPARF. (2013). Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de microbiología farmacéutica. *Red Panamericana de Armonización de la Reglamentación Farmacéutica*, 1-38. Recuperado el 11 de 01 de 2024
- Romero, C., Castañedas, D., & Acosta, G. (2016). Determinación de la calidad bacteriológica del aire en un laboratorio de microbiología en la Universidad Distrital laboratorio de microbiología en la Universidad Distrital Francisco José de Caldas en Bogotá. *Centro de Investigaciones y Desarrollo Científico de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas*, 1-9. Recuperado el 12 de 01 de 2024
- Ruales, S. (2016). Recomendaciones para la monitorización de la calidad microbiológica del aire (bioseguridad ambiental) en zonas hospitalarias de riesgo. *Sociedad Andaluza de Medicina Preventiva y Salud Pública*, 1-36. Recuperado el 04 de 01 de 2024
- SAMPSP. (2016). *Recomendaciones para la monitorización de la calidad microbiológica del aire (bioseguridad ambiental) en zonas hospitalarias de riesgo*. Sociedad Andaluza de Medicina Preventiva y Salud Pública. Recuperado el 15 de 01 de 2024
- USP. (2012). Microbiological control and monitoring of aseptic processing environments. *The United States Pharmacopeial Convention*, 697-707. Recuperado el 23 de 01 de 2024

- Villamar, C. (2009). *Control de calidad interno en Microbiología*. Recuperado el 23 de 01 de 2024, de <http://www.unavarra.es/genmic/microgral/manual%20practicas%20micagral.pdf>
- WHO. (2003). *Prácticas de Seguridad Estándar en el Laboratorio de Microbiología* . Recuperado el 27 de 01 de 2024, de http://whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_RMD_2003.6_apendices_spa.pdf
- WHO. (2011). Annex 6 WHO good manufacturing practices for sterile pharmaceutical products. *World Health Organization*, 1-24. Recuperado el 12 de 01 de 2024
- WHO. (2012). Environmental Monitoring of Clean Rooms in Vaccine Manufacturing Facilities - Points to consider for manufacturers of human vaccines. *World Health Organization*, 1- 37. Recuperado el 12 de 01 de 2024
- Xu, Z. (2014). Theory of Biological Cleanroom Chapter 9. Fundamentals of Air Cleaning Technology and Its Application in Cleanrooms-Springer, Microbiological air monitoring in medical organizations. *Higienic and Epidemiological Center in Republic of Tatarstan*, 1-5. Recuperado el 23 de 01 de 2024, de https://doi.org/10.1007/978-3-642-39374-7_9

ANEXOS

DERECHOS DEL AUTOR

Sr. Dr.

Fabricio Guevara Viejó

Rector de la Universidad Estatal de Milagro

Yo, Mazacon Solano Willy Ramon y Zavala Panchana Mayra Veronica en calidad de autores y titulares de los derechos morales y patrimoniales de este ensayo académico, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedemos los derechos de Autor, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de Magister en Biotecnología, como aporte a la Línea de Investigación (**Línea de investigación**) de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizamos a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Ensayo académico en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Los autores declaran que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, (**Fecha completa**)

(**firma electrónica**)

(**Nombres completos**)

(**Número de cédula**)

APROBACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, [nombre coordinador programa] en mi calidad de director del trabajo de titulación, elaborado por [nombre estudiante], cuyo tema es [Tema del trabajo del ensayo académico], que aporta a la Línea de Investigación [línea de investigación], previo a la obtención del Grado Magister en..... Trabajo de titulación que aporta al examen complejo con el componente práctico al desarrollo del ensayo académico que es una evaluación a un proyecto áulico desde una base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea

habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, (fecha completa)

[Firma electrónica]

[Nombres completos coordinador del programa]

[Número de cédula coordinador]

UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

¡Evolución académica!

@UNEMIEcuador

