

**UNIVERSIDAD RICARDO PALMA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS VETERINARIAS**



**“Vida útil de gases esterilizadas en horno  
microondas utilizando dos materiales de empaque”**

Alexeivich Cucho Vilchez

Tesis para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

Directora: MV Úrsula Bezold Arnillas

**Lima, Perú**

**2018**

## DEDICATORIA

*Dedico esta tesis a mi madre Anabel, a mi abuela María, a mi hermana Raysa y a toda mi familia quienes fueron un gran apoyo emocional durante el tiempo en que redactaba esta tesis.*

*A mi novia Diana quien me apoyó y alentó para continuar, cuando parecía que me iba a rendir.*

*A mi directora de tesis, Úrsula Bezold Arnillas por la ayuda constante en todo el desarrollo de la tesis.*

*A mis maestros, a quienes les debo todo lo aprendido y me apoyaron incondicionalmente.*

*A aquellas personas que estuvieron conmigo a lo largo de este proceso.*

*Y sobre todo a Dios que me dio las fuerzas de seguir y no rendirme.*

## RESUMEN

Con la finalidad de probar la duración de la esterilidad de gasas previamente sometidas a la acción del horno microondas como método de esterilización, se evaluó la presencia de microorganismos en gasas esterilizadas durante el transcurso de los días mediante los cultivos Macconkey, Nutritivo y Sabouraud, comparando dos materiales de empaque. El estudio se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Ricardo Palma, con gasas empaquetadas en papel kraft y papel grado médico. Se utilizaron 32 paquetes de gasas sometidos por 60 segundos a las ondas electromagnéticas de alta frecuencia en un horno microondas de 1000W; los paquetes fueron expuestos en grupos de 2 y se almacenaron en cajas plásticas herméticas. El mismo día se realizó el lavado y filtrado de las gasas y se sembró la membrana de filtro en los respectivos agares, continuando con muestreos y siembras de forma interdiaria. En el primer muestreo las gasas presentaron microorganismos fúngicos *Penicilium spp.*, cuatro días tras la exposición al horno microondas las gasas envueltas en papel kraft se encontraban contaminadas por bacterias y al noveno día tras exposición se encontró contaminación por bacterias en las gasas envueltas con papel grado médico, es decir, las gasas envueltas en papel kraft están libres de bacterias 2 días tras exposición y las de papel grado médico hasta el séptimo día. Se concluye que las ondas electromagnéticas del horno microondas no esterilizan completamente el material estudiado, ya que se encontró *Penicilium spp* desde el primer muestreo realizado inmediatamente tras la exposición a la acción del horno microondas.

Palabras claves: Esterilización, Horno microondas, ondas electromagnéticas de alta frecuencia, Papel Kraft, Papel grado médico.

## ABSTRACT

In order to test the sterility duration of gauzes previously subjected to the action of the microwave oven as a sterilization method, the presence of microorganisms in gauze sterilized during the course of the days was evaluated by Macconkey, Nutritivo and Sabouraud cultures, comparing Two packaging materials. The study was conducted in the Microbiology Laboratory of the Ricardo Palma University, with gauze packed in kraft paper and medical grade paper. 32 packets of gauze subjected for 60 seconds to high frequency electromagnetic waves in a 1000W microwave oven were used; The packages were exposed in groups of 2 and stored in hermetic plastic boxes. On the same day, the washing and filtering of the gauzes was carried out and the filter membrane was seeded in the respective agars, continuing with sampling and sowing interdiarily. In the first sampling the gauzes presented fungal microorganisms *Penicilium spp.*, Four days after the exposure to the microwave oven the wrappings wrapped in kraft paper were contaminated by bacteria and on the ninth day after exposure bacterial contamination was found in the gauze wrapped with paper grade doctor, that is, the wrappings wrapped in kraft paper are free of bacteria 2 days after exposure and those of medical grade paper until the seventh day. It is concluded that the electromagnetic waves of the microwave oven do not completely sterilize the material studied, since *Penicilium spp* was found from the first sampling done immediately after exposure to the action of the microwave oven.

Keywords: sterilization, microwave oven, Kraft paper, medical grade paper, high frequency electromagnetic waves

# INDICE

<b>RESUMEN</b>	<b>3</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>4</b>
<b>INDICE</b>	<b>5</b>
<b>INDICE DE FIGURAS</b>	<b>7</b>
<b>INDICE DE TABLAS</b>	<b>8</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>9</b>
<b>II. ANTECEDENTES</b>	<b>11</b>
<b>2.1. Bacterias Aerobias Mesófilas</b>	<b>12</b>
<b>2.2. Escherichia coli y Coliformes</b>	<b>13</b>
<b>2.3. Salmonella spp.</b>	<b>14</b>
<b>2.4. Staphylococcus aureus y Pseudomona aeuruginosa</b>	<b>15</b>
<b>2.5. Penicillium spp</b>	<b>17</b>
<b>2.6. Métodos de esterilización:</b>	<b>20</b>
2.6.1. Calor húmedo:	20
2.6.2. Calor seco:	21
2.6.3. Exposición a las ondas electromagnéticas de alta frecuencia (horno microondas)	21
<b>2.7. Envoltorios utilizados en la esterilización de material médico</b>	<b>22</b>
2.7.1. Envoltorio de grado no médico:	22
2.7.2. Envoltorios de grado médico:	22
<b>2.8. Máquina de filtrado</b>	<b>23</b>
2.8.1. Membrana de filtrado.	23
<b>2.9. Objetivo General</b>	<b>25</b>
<b>2.10. Objetivos específicos</b>	<b>25</b>
<b>III. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>26</b>

3.1.	Lugar de Ejecución	26
3.2.	Materiales de laboratorio:	26
3.3.	Equipos electrónicos:	27
3.4.	Agares:	27
3.5.	Método de trabajo	28
3.6.	Preparación de medios de cultivos	30
3.7.	Método de lavado y filtrado.	30
3.8.	Procedimiento de lavado y sembrado	32
		32
IV.	<i>RESULTADOS</i>	33
V.	<i>DISCUSIÓN</i>	36
VI.	<i>CONCLUSIONES</i>	38
VII.	<i>RECOMENDACIONES</i>	39
VIII.	<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	40
IX.	<i>ANEXOS</i>	44

# INDICE DE FIGURAS

<i>Figura N° 1. Paquetes de gasas</i>	28
<i>Figura N° 2. Máquina de Filtrado al vacío y motor al vacío.</i>	31
<i>Figura N° 3. Máquina de filtrado</i>	45
<i>Figura N° 4. Muestreo</i>	45
<i>Figura N° 5. Positivo a Bacterias (Gram positivas: Bacilo en microscopio)</i>	46
<i>Figura N° 6. Pesaje de la gasa</i>	46

# INDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1: Tiempo de viabilidad de gasas esterilizadas en horno microondas envueltos en papel kraft para hongos</i>	<u>34</u>
<i>Tabla 2: Tiempo de viabilidad de gasas esterilizadas en horno microondas envueltos en papel kraft para bacterias</i>	<u>34</u>
<i>Tabla 3: Tiempo de viabilidad de gasas esterilizadas en horno microondas envueltos en papel grado médico para hongos</i>	<u>35</u>
<i>Tabla 4: Tiempo de viabilidad de gasas esterilizadas en horno microondas envueltos en papel grado médico para bacterias</i>	<u>35</u>



# I. INTRODUCCIÓN

Los procesos de asepsia son llevados a cabo diariamente, no solo en laboratorios donde son fundamentales para evitar la contaminación, sino también en otros ámbitos tales como hospitales y clínicas veterinarias donde fallan en estos procedimientos se relacionan con aumento de la mortalidad de los pacientes. Es por ello que el profesional de medicina veterinaria debe estar familiarizado con los procedimientos de asepsia de materiales. (Perez, Margot, Perez, Patiño y Calvmonte, 2010:19)

El veterinario debe saber manejar en forma fluida la información que le permita discernir cuándo es necesario esterilizar, y llevar a cabo el proceso correspondiente en forma satisfactoria, logrando así eliminar el riesgo de contaminación en procesos médicos rutinarios y de emergencia por el uso de material no estéril.

La esterilización es el proceso mediante el cual se alcanza la muerte de todas las formas de vida microbianas, incluyendo bacterias y sus formas esporuladas altamente resistentes, hongos y sus esporas, y virus. Se entiende por muerte, la pérdida irreversible de la capacidad reproductiva del microorganismo. (Perez, Margot, Perez, Patiño y Calvmonte, 2010:19)

Mediante la esterilización se logra la destrucción total de gérmenes en los objetos inanimados; la esterilización no admite grados, tiene que ser absoluta y se puede llevar a cabo mediante varias técnicas. (Girard y Perraud, 2002:4)

Esterilización por vapor (autoclave)

Esterilización por calor seco (horno)

Ebullición de agua

Esterilización por medio de la exposición a las ondas electromagnéticas de radiación de alta frecuencia. (radiación)

La presente investigación tiene como finalidad determinar el tiempo de viabilidad estéril de gasas sometidas a la radiación no ionizante del horno microondas, usando 2 tipos de envoltorios (papel kraft y papel grado médico).

## II. ANTECEDENTES

El presente estudio surge ante la necesidad de determinar si las gasas sometidas a un proceso de esterilización mediante la radiación no ionizante del horno microondas continúan siendo viables para el uso diario profesional tras varios días del proceso de esterilización.

Las complicaciones clínicas con respecto a fallas de esterilidad suelen ser producto de errores humanos; por la falta de bases científicas sobre el tiempo de esterilidad de las gasas ya esterilizadas y el envoltorio adecuado. Los problemas más comunes son infecciones, septicemias, mala cicatrización y, por ende, mayor tiempo de antibióticos y recuperación tardía. (Perez et al, 2010: 6; Nodarse , 2002: párr. 11).

El estudio científico de las infecciones hospitalarias cruzadas o nosocomiales tiene su origen en la primera mitad del siglo XVIII principalmente por médicos escoceses. En 1740 Sir John Pringle realizó las primeras observaciones importantes acerca de la infección nosocomial y dedujo que esta era la consecuencia principal y más grave de la masificación hospitalaria e introdujo el término “antiséptico”. (Pérez et a, 2010:16; Nodarse, 202:párr. 25)

El estudio clásico de Semmelweis de fiebre puerperal en un Hospital de Viena a mediados del siglo XIX, notó que los recién nacidos y sus madres en la primera división que eran atendidos por estudiantes de medicina procedentes de la sala de autopsia del hospital tenían mayor porcentaje de infecciones que los pacientes de la segunda división que eran atendidas por parteras, esto también ocurre en Medicina Veterinaria ya que al no tener personal especializado a veces se tiene que utilizar todos los recursos humanos disponibles. Fue hasta principios del siglo XX cuando se empezaron a implementar diferentes procedimientos para disminuir las infecciones nosocomiales. Se han reportado una gran variedad de

microorganismos como causantes de infecciones nosocomiales, siendo los más frecuentes *S. aureus*, *S. epidermidis*, bacilos Gram negativos, enterococos y *Candida sp.* Sin embargo, la población bacteriana depende de las características especiales del paciente, dispositivos invasivos, procedimientos y tratamientos instaurados. (Perez et al: 2010: 2; Nodarse, 2002:párr. 36)

Las infecciones nosocomiales más frecuentes son a nivel de heridas quirúrgicas, las vías respiratorias inferiores y las urinarias. (Nodarse, 2002:párr.13) Las infecciones nosocomiales agravan la discapacidad funcional y la tensión emocional del paciente demorando la recuperación o hasta causarle la muerte; el problema es que la infección trabaja de manera lenta hasta que el paciente entra en un estado crítico. Por otro lado, el stress por internamiento hospitalario puede sumarse al problema y acelerar el deterioro del paciente.

Los microorganismos más comunes encontrados en muestreos de material no estéril son los siguientes: (Velarde,2016: S-6)

- Bacterias aerobias mesófilas
- *Escherichia coli* y coliformes
- *Salmonella sp.*
- *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

## **2.1. Bacterias Aerobias Mesófilas**

Son bacterias que descomponen la materia orgánica a temperaturas que oscilan entre 30° y 40° C. y utilizan al agua como medio de eliminación de excretas y otros desechos. Se incluyen también microorganismos patógenos de asiento no intestinales (de la piel, por ejemplo); estos son las llamadas bacterias mesofílicas. (Milla y Morales, s,f:párr. 1)

Características de las bacterias aerobias mesófilas: (Milla y Morales, Art 17299: párr. 2)

- Se multiplican en aerobiosis
- Temperatura de incubación entre los 20 y los 37°C
- Pueden ser patógenas o saprófitas
- Recuentos altos en alimentos estables a menudo indican materias primas contaminadas o tratamientos no satisfactorios desde el punto de vista sanitario.

Su presencia en productos perecederos (como por ejemplo alimentos) puede indicar también condiciones inadecuadas de tiempo/temperatura durante su almacenamiento.

La presencia de un número elevado de bacterias aerobias mesófilas que crecen bien a temperatura corporal o próxima a ella, significa que puede haberse dado condiciones favorables a la multiplicación de los microorganismos patógenos de origen humano o animal.

Todas las bacterias patógenas conocidas vehiculadas por los alimentos son mesófilas y en algunos casos contribuyen con su presencia a los recuentos en placa encontrados. (Milla y Morales, S/f: párr. 9)

## **2.2. Escherichia coli y Coliformes**

Las bacterias del grupo de los coliformes que son capaces de fermentar lactosa a 44-45 °C se conocen como coliformes termotolerantes. En la mayoría de las aguas, el género predominante es *Escherichia*, pero algunos tipos de bacterias de los géneros *Citrobacter*, *Klebsiella* y *Enterobacter* también son termotolerantes. *Escherichia coli* se puede distinguir de los demás coliformes termotolerantes por su capacidad para

producir indol a partir de triptófano o por la producción de la enzima  $\beta$ -glucuronidasa. *E. coli* está presente en concentraciones muy grandes en las heces humanas y animales, y raramente se encuentra en ausencia de contaminación fecal, aunque hay indicios de que puede crecer en suelos tropicales. Entre las especies de coliformes termotolerantes, además de *E. coli*, puede haber microorganismos ambientales. (Ríos-Tobon, Agudelo, Gutiérrez, 2017:239)

### **2.3. Salmonella spp.**

Bacterias del género *Salmonella* figuran dentro de las cuatro principales causas de enfermedades diarreicas. [Cresa], 2017: párr.6)

Si bien la mayoría de los casos de salmonelosis son leves, algunas veces la enfermedad puede ser mortal. La gravedad de la enfermedad depende de factores propios del huésped y del serotipo de *Salmonella*.

La resistencia a los antimicrobianos es un problema de salud pública mundial. *Salmonella* es uno de los microorganismos entre los que han aparecido algunos serotipos resistentes a los antimicrobianos que afectan a la cadena alimentaria.

Como medidas de prevención contra la salmonelosis se recomiendan prácticas básicas de higiene de los alimentos, como su cocción completa. Las fuentes de infección suelen ser otros animales portadores infectados, (mamíferos, aves, roedores, insectos), el hombre, el agua o el alimento contaminado y el ambiente de la granja (heces, polvo, equipos, suelos mal desinfectados, etc.). La principal puerta de entrada de la *Salmonella* es la vía oral, por contacto con heces de animales infectados. Al ser resistente al pH del estómago, sales biliares y peristaltismo, coloniza el intestino delgado e invade los ganglios linfáticos mesentéricos, provocando una infección localizada. La *Salmonella* evade las defensas intracelulares de las células intestinales sin ser destruida y comienza a dividirse dentro de la

célula. Posteriormente, pasa a la sangre y produce una infección sistémica, multiplicándose en macrófagos, y localizándose en hígado, bazo, médula ósea, etc. Se elimina por las heces, y se multiplica en el ambiente, donde es muy resistente. En caso de entrada por vía aerógena, se produce una invasión en las amígdalas y los pulmones.

En producción pecuaria, la enfermedad entra en la granja a través de la compra de nuevos animales, pudiendo permanecer dichas explotaciones infectadas durante años. El contagio se produce principalmente de forma directa a través de animales infectados por vía oral (por contacto feco-oral), aunque también por vía aerógena (por aire) y conjuntival. En determinadas especies y tipos de animales se producen también transmisiones intrauterinas y transplacentarias. En aves, *Salmonella pullorum* y *Salmonella gallinarum* son capaces de transmitirse transováricamente (a través de los huevos). Las infecciones por algunos tipos de *Salmonella* pueden ser indirectas y proceder del agua, del pienso y de las más variadas especies de animales (roedores, moscas y pájaros actúan como huéspedes reservorios). Los factores estresantes actúan de desencadenantes de la enfermedad. (Cresa, 2017: párr. 16-19)

#### **2.4. Staphylococcus aureus y Pseudomona aeruginosa**

Las infecciones por *Pseudomona aeruginosa* son graves, especialmente cuando existe bacteriemia. Ésta suele presentarse en pacientes con enfermedad grave de base, larga estancia hospitalaria y uso previo de antibióticos.

Al parecer la lesión inicial provocada por la *P. aeruginosa* al epitelio respiratorio y otras mucosas está mediada por pili o fimbrias y por un exopolisacárido mucoide conocido como alginato. Existen receptores de estas adhesinas en las células epiteliales. El microorganismo produce diversas enzimas extracelulares como la proteasa alcalina, elastasa,

fosfolipasa, citotoxina y exoenzimas A y S. la alteración de los tejidos del huésped por estos productos bacterianos extracelulares crea las condiciones necesarias para la proliferación e invasión bacteriana y la consiguiente destrucción del tejido.

*Pseudomonas aeruginosa* ocasiona frecuentemente infecciones intrahospitalarias, prolongando el período de hospitalización, incrementando los costos médicos, particularmente en pacientes inmunocomprometidos o críticamente enfermos. Estas infecciones son difíciles de tratar debido a que las cepas responsables pueden ser resistentes a múltiples antibióticos, incluyendo cefalosporinas de tercera generación. Puede ocurrir resistencia antibiótica durante o después del tratamiento de las infecciones por *P. aeruginosa*. El espectro clínico de las infecciones es muy cambiante y está influenciado por factores dependientes del huésped, el agente y el medio ambiente, por ello es importante revisar periódicamente las características clínicas y microbiológicas de las infecciones como parte de un sistema de vigilancia epidemiológica y control de las mismas. ("*Pseudomonas aeruginosa*", 2016: párr. 1-2)

El *Staphylococcus aureus* fue descubierto por el médico Alexander Ogston en 1880, y es considerado un patógeno con gran potencial para causar múltiples infecciones en el humano y en los animales. *S. aureus* es la especie tipo del grupo, considerada la más virulenta, responsable de un amplio espectro de enfermedades, que van desde infecciones de la piel y tejidos blandos hasta infecciones graves que amenazan con la vida. El impacto de las cepas de *S. aureus* sobre la salud es la resistencia que puede presentar a múltiples antibióticos, sobre todo a la meticilina. A través de los años se ha incrementado la tasa de morbilidad y mortalidad a pesar del gran número de antibióticos disponibles que existen. (Cervantes, Rafael y Paz, 2014: 28)

*S. aureus* forma parte de la flora normal del humano, entre 25 y 50% de la población sana está colonizada por esta bacteria, constituyendo un riesgo



por su diseminación. Éste puede ser adquirido a través del contacto con otras personas o por exposición al ambiente. El Centro de Enfermedades Infecciosas estima que en EUA en el año 2005 se desarrollaron 94,360 infecciones invasivas por *S. aureus* resistentes a la meticilina. Sin embargo, en los últimos años se ha observado un incremento progresivo de infecciones producidas por cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina, con una sensibilidad a los antibióticos diferente que afecta a la población sana sin haber tenido contacto previo con los hospitales o clínicas de salud. Estas infecciones provocadas por *S. aureus* resistentes a la meticilina adquiridas en la comunidad pueden desarrollar diferentes enfermedades, siendo las más comunes en la piel y tejidos blandos. Los estudios de epidemiología molecular son de gran importancia ya que nos han permitido entender las relaciones evolutivas entre las cepas, así como conocer el origen de las clonas durante los brotes epidémicos. (Cervantes et al, 2014: 29)

## **2.5. *Penicillium* spp**

*Penicillium* es un hongo filamentoso hialino, saprófito perteneciente al filo Ascomycota. Macroscópicamente las colonias son normalmente de crecimiento rápido; al principio de color blanco y con el tiempo adquieren color azul, azul verdoso, verde, gris oliva o tonos rosados, con reverso amarillo cremoso. La textura puede ser plana, filamentosa, aterciopelada o algodonosa dependiendo de la especie; además puede presentar gotas de exudado. Microscópicamente presenta hifas hialinas septadas. Los conidióforos tienen ramas secundarias, denominadas métulas. Estas son de forma cilíndrica, con paredes lisas y portan de 3 a 6 fiálides en forma de matraz; de las cuales surgen largas cadenas sin ramificar de esporas o conidios formando el penacho o pincel característico del género. (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2016: 1)

Hospedadores: Humanos y animales. Dosis infectiva mínima (DIM): Se desconoce en la actualidad. (Instituto Nacional de seguridad e higiene en el trabajo, 2016:2)

Supervivencia ambiental, su temperatura óptima de crecimiento es de 20°C-30°C, aunque dependiendo de la especie puede crecer en el intervalo de 5°C-37°C, produciendo la alteración de alimentos en refrigeración; también tolera grandes variaciones de pH entre 3,5-10, aunque crece mejor y más rápido a pH cercano a 4. Sus esporas se encuentran en forma de bioaerosol en el aire, con una concentración ambiental más o menos estable a lo largo del año, aunque se dan concentraciones pico en invierno y primavera. Es un contaminante habitual en los edificios formando parte del polvo; principalmente en los edificios húmedos y mohosos donde deteriora diferentes materiales de construcción o decoración (aglomerados de madera, papel de decoración, gomas o sellos aislantes de puertas y ventanas, material de aislamiento del sistema de ventilación y climatización, etc.). Además, es uno de los principales productores de micotoxinas y de compuestos orgánicos volátiles de origen microbiano (COVM) como: alcoholes, cetonas, hidrocarburos, etc. Las esporas resisten la desecación. La transmisión es por la inhalación por aerosoles que contienen las esporas y por la contaminación de heridas o la inoculación accidental, mediante el contacto y cortes o pinchazos con herramientas o elementos contaminados (ramas, pajas). La inhalación de las esporas y de los COVM presentes en los ambientes laborales y en los edificios produce, principalmente, procesos de irritación, sensibilización y alergia. La ingesta de alimentos contaminados puede provocar intoxicaciones. (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2016: 2).

Vías de entrada: Respiratoria, Digestiva y Parenteral.

Distribución geográfica: Mundial.

## Efectos en la salud

Infección patógena oportunista que causa infecciones respiratorias e infecciones locales o superficiales como: neumonías, queratitis, endoftalmitis, otomicosis, endocarditis, esofagitis e infecciones cutáneas y de heridas quirúrgicas.

Inactivación física: Inactivación con calor húmedo a 121°C durante al menos 15 minutos. (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2016: 4).

En humanos, estos organismos son a menudo identificados en pacientes inmunosuprimidos, ya sea debido al virus de la inmunodeficiencia humana o de los medicamentos inmunosupresores post trasplante. El diagnóstico puede ser difícil, pero *Penicillium sp.* crece rápidamente en la rutina de cultivos de hongos. El pronóstico clínico es muy pobre, pero un tratamiento es esencial, incluido el desbridamiento quirúrgico, y la eliminación de focos de infección junto con el uso de la anfotericina B. La utilidad clínica de nuevos agentes antifúngicos queda por determinar. (Barcus y Burdelle, 2005: párr. 4)

La calidad ambiental del aire interior de centros de salud puede ser alterada por contaminación microbiológica causada por hongos. En un estudio realizado en Loreto, región que se caracteriza por tener un clima tropical y una alta dispersión poblacional, que hacen que la proliferación de hongos en el ambiente sea exitosa, se realizó un análisis microbiológico del aire al interior de ambientes ambulatorios de dos centros de salud durante el periodo setiembre-diciembre del 2015 en los centros de salud de Moronacocho y San Antonio. Mediante el método de deposición horizontal en placas se logró aislar 40 colonias en el centro de salud de Moronacocho y 40 colonias en el centro de salud de San Antonio. A través de la caracterización macroscópica, el microcultivo y la caracterización microscópica se encontró que en el centro de salud de Moronacocho predominó *Penicillium* (62.2%), seguido por *Aspergillus* (25%) y otros

(12.5%). Sin embargo, en el centro de salud de San Antonio predominó el género *Aspergillus* (47.5%) pero también estuvieron presentes hongos del género *Penicillium* (35%) y otros (17.5%). Así mismo, no se encontró diferencias significativas en la presencia y frecuencia de hongos, por lo que los distintos ambientes ambulatorios de ambos centros de salud estarían contaminados en similar medida. (García Villacorta, 2015: párr. 1)

## **2.6. Métodos de esterilización:**

### **2.6.1. Calor húmedo:**

La autoclave es un aparato de estructura metálica fabricado para soportar grandes presiones de vapor y temperatura elevada. La esterilización se logra cuando la autoclave alcanza una presión de 18 a 20 libras y a una temperatura de 100 grados centígrados; la temperatura es mantenida por 30 minutos. (Risco, 2003: 3)

El calor húmedo destruye los microorganismos por coagulación de sus proteínas celulares. El principal método de esterilización que emplea calor húmedo es la esterilización por vapor a presión. Existen otros métodos de descontaminación que emplean este tipo de calor los cuales, aunque no permiten la destrucción total de los microorganismos, disminuyen la carga microbiana que posee un material.

Entre las ventajas de este método de esterilización tenemos que no deja residuos, las autoclaves modernas son sencillas de manejar y es un método rápido de esterilización. Es el método de elección para esterilizar materiales termoestables y no sensibles a la humedad como medios de cultivo, cultivos de microorganismos para descartar, lencería, uniformes, instrumentos quirúrgicos, etc. Entre sus desventajas están que no permite la esterilización de materiales sensibles al calor y materiales no miscibles con el agua como es el caso de polvos, aceites y grasas. (Gutiérrez, 2001a: 1-2)

### **2.6.2. Calor seco:**

Este procedimiento es muy útil y se emplea para la esterilización de pipetas y cristalería que se utiliza en laboratorios, en instrumental de cirugía y otros. El horno es una caja metálica dividida con parrillas en su interior, en donde se colocan los equipos que van a ser esterilizados, con una puerta que ajusta herméticamente. Consta de resistencia eléctrica, la cual van a producir el calor y la cámara de esterilización tiene un termómetro que indica la temperatura. Al calentar el aire, este penetra en las envolturas de los equipos. (Risco, 2003: 4)

El material se expone a temperaturas de aproximadamente 170°C durante 2 horas. El tiempo de esterilización se debe determinar para cada tipo de material, por ejemplo, en el caso de materiales muy resistentes al calor, se pueden usar temperaturas más altas por tiempos más cortos. Entre las ventajas de este método de esterilización están que no deja residuos, y es un método rápido y económico. Además, permite la esterilización de materiales no miscibles con el agua como es el caso de polvos, aceites y grasas. Su principal desventaja es que sólo debe emplearse para esterilizar materiales termoestables. Para controlar este proceso de esterilización se utilizan indicadores físicos tales como los termómetros, los cuales permiten medir la uniformidad de la temperatura de la cámara interna del horno, indicadores químicos como las cintas adhesivas e indicadores biológicos como las esporas de *Bacillus subtilis*. Este método se emplea para la esterilización de material de vidrio, instrumentos quirúrgicos, agujas de metal, materiales no miscibles con el agua, etc. (Gutiérrez 2001b:1-2)

### **2.6.3. Exposición a las ondas electromagnéticas de alta frecuencia (horno microondas)**

La exposición directa a ondas electromagnéticas de alta frecuencia (microondas) por 60 segundos a 1000 watts de potencia mostró una

efectividad del 100% en la esterilización de material de fibra de algodón (gasa) previamente inoculados. (Risco, 2003: 23-23)

Microondas es un término descriptivo que se utiliza para identificar ondas electromagnéticas en el espectro de frecuencias comprendido entre 1 Ghz y 30 Ghz, que corresponden a las longitudes de ondas de 1cm a 30 cm. Los hornos microondas son alimentados mediante energía eléctrica, transformándola en ondas de alta frecuencia (ondas electromagnéticas) siendo su principal finalidad de calentar moléculas bipolares. (Risco, 2003: 7)

## **2.7. Envoltorios utilizados en la esterilización de material médico**

### **2.7.1. Envoltorio de grado no médico:**

- Muselina: para autoclave. Se lava después de cada uso, por lo que se va deteriorando y reduce su eficacia.
- Papel kraft: derivado de celulosa.
- Papel corriente: para autoclave, aunque no se considera una barrera adecuada.

Contenedores rígidos: son metálicos, de diferentes formas y tamaños. (Borja, Burga, Chang, Loyola y Llanos, 2002: 188).

### **2.7.2. Envoltorios de grado médico:**

- Papel de fibra no tejida (llamado papel crepado)
- Papel mixto: combina el papel de grado médico y un polímero transparente. Es el envoltorio común de las centrales de

esterilización. Tiene un punto seguro transparente y otra opaca. Se usa en autoclave, óxido de etileno y vapor.

- Envoltorios plastificados: se utiliza con cierres herméticos o cerrados al vacío. (Borja et al: 2002: 188).

## **2.8. Máquina de filtrado**

La filtración al vacío es una técnica de separación de mezclas sólido-líquido. La mezcla se introduce en un embudo Büchner con el papel de filtro acoplado al fondo. El embudo Büchner se coloca sobre un matraz Kitasato. Desde el fondo del embudo se aplica con una bomba un vacío que succiona la mezcla, quedando el sólido atrapado entre los poros del filtro. El resto de la mezcla atraviesa el filtro y queda depositada en el fondo del recipiente. Esta técnica es más rápida que la filtración habitual por gravedad y está indicada cuando dichos procesos de filtración son muy lentos. (Osorio, 2014: 1).

### **2.8.1. Membrana de filtrado.**

Los filtros de membrana cuadrículadas estériles se utilizan ampliamente para la rutina de control de calidad microbiológica debido a los beneficios que ofrecen. Ya sea de un solo empaquetado o dispensador, los filtros de membrana están listos para usar y cada filtro está empaquetado individualmente, ofreciendo mayor seguridad con ahorro del tiempo preparatorio. Cada sobre individual está marcado con la identificación de filtro y número de lote.

Los filtros de membrana están disponibles en diferentes tamaños de poro y tres tipos de materiales diferentes. Filtros de nitrato de celulosa (éster de celulosa mixto) contienen una mezcla de nitrato de celulosa y acetato de celulosa, un material que asegura una retención eficaz combinado con altas

tasas de flujo y un crecimiento óptimo de colonia. El acetato de celulosa combina altas velocidades de flujo y estabilidad térmica con características de muy baja adsorción. Los diversos colores de filtro permiten un mejor contraste posible a las colonias para una cuantificación e identificación fácil y fiable. (Laboratorio Sartorius, s.f. :1 )



## **OBJETIVOS**

### **2.9. Objetivo General**

Determinar el tiempo de viabilidad de gasas esterilizadas en horno microondas envueltas en dos tipos de envoltorios.

### **2.10. Objetivos específicos**

- Determinar mediante cultivo la presencia de microorganismos en gasas no esterilizadas.
- Determinar la duración de la esterilización de gasas sometidas a la radiación no ionizante del horno microondas en estos tipos de envoltorios.
- Determinar cuál de los dos envoltorios es más efectivo en el tiempo.

## III. MATERIAL Y MÉTODOS

### 3.1. Lugar de Ejecución

El estudio se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Ricardo Palma, localizado en el distrito de Santiago de Surco, Lima, localizado en la costa limeña, entre los 0 y 500 msnm, con una humedad del 89% correspondiente a otoño del 2017, según SENAMHI.

### 3.2. Materiales de laboratorio:

- 1) Placa Petri 18 c/s.
- 2) Material de algodón (gasas)
- 3) Mechero Bunsen
- 4) Agua destilada
- 5) Cuerda o pabilo
- 6) Guantes, gorras y mascarilla descartables
- 7) Medios de cultivo:
  - Agar Nutritivo
  - Agar Macconkey
  - Agar Sabouraud
- 8) Membrana de filtro
- 9) Matraz

- 10) Beakers de laboratorio
- 11) Equipo de filtrado al vacío.
- 12) Bomba de succión para el filtrado.
- 13) Microscopio
- 14) Kit tinción Gram

### **3.3. Equipos electrónicos:**

- 1) Horno microondas 1000 watts de potencia.
- 2) Autoclave
- 3) Horno Pasteur.
- 4) Laptop.

### **3.4. Agares:**

La preparación de los medios de cultivo se realizó en referencia a su descripción.

**Agar nutritivo:** Es un medio de cultivo usado rutinariamente para todo tipo de bacteria. Es muy útil por que permanece sólido incluso a relativamente altas temperaturas. Además, el crecimiento bacteriano en este agar se produce en la superficie, por lo que se distinguen mejor las colonias bacterianas pequeñas. (Universidad Nacional de San Luis, 2016:12)

**Agar Mac Conkey:** Es un medio de cultivo específico para bacterias Gram Negativas y cepas que fermenten la lactosa. (Universidad Nacional de San Luis, 2016)

**Agar Sabouraud:** Es un medio de cultivo que por sus características funciona como medio de enriquecimiento para hongos; el medio contiene una elevada concentración de glucosa que favorece el crecimiento de los hongos sobre las bacterias. (Universidad Nacional de San Luis, 2016: 42)

### 3.5. Método de trabajo

- 1) Las gasas fueron cortadas, dobladas y envueltas en paquetes de 5 gasas cada uno. El empaquetado siguió las recomendaciones de la literatura. (Fossum, Hedlund, Johnson, Schulz, Howard, Willard, Bahr, Gwendolyn 2008: 187).

El peso total por paquete fue de 50 g, la mitad de paquetes fueron envueltos con papel de grado médico y el resto con papel kraft; teniendo un total de 60 paquetes.



Figura N° 1. Paquetes de gasas

- 2) Una vez empaquetadas todas las gasas se realizó un estudio de tipo prospectivo y descriptivo que consistió en tomar un par de paquete

envuelto de papel de grado médico y otro par en papel kraft los cuales; sin esterilizar, fueron nuestras muestras control.

- 3) Los paquetes control fueron sometidos al método de lavado que consistió en introducir las gasas en un matraz con 1000 ml de agua destilada estéril y homogenizada por 3 minutos, a continuación, se filtró con las membranas de filtro para luego ser sembrado en placas Petri con los agares ya mencionados para corroborar la presencia de microorganismos en dicho material no esterilizado.
- 4) Los demás paquetes, en ambos envoltorios fueron expuestos a la radiación no ionizante del horno microondas en lotes de 2 paquetes cada uno para lograr los 100g descritos en la literatura. (Fossum T. et al, 2008:187). El proceso para todo el lote no excedió las 2 horas. Una vez completada la esterilización fueron colocados según su empaque en cajas de plástico con cierre hermético.
- 5) Dentro de los 30 minutos siguientes al proceso de esterilización de todos los paquetes se tomó al azar un par de paquetes de cada envoltorio cerca de un mechero y fueron sometidos al método de lavado y filtrado ya mencionado para confirmar la presencia de microorganismos. Debe tenerse en cuenta que para cada proceso todo el equipo de filtrado fue esterilizado por medio del autoclave.
- 6) De manera interdiaria se realizó un muestreo similar al descrito en el párrafo anterior hasta detectar el crecimiento de microorganismos en las gasas sometidas a la radiación no ionizante del horno microondas en ambos tipos de empaquetado; al detectarse la presencia de microorganismos se dio por finalizado el experimento. Debe aclararse que no se realizaron muestreos los sábados y domingos por motivos de acceso al laboratorio, por lo que estos se efectuaron los días lunes, miércoles y viernes de cada semana. El tiempo máximo de evaluación planeado fue de 15 muestreos equivalente 34 días aproximadamente.

- 7) Los cultivos positivos a bacterias fueron coloreados con tinción Gram y observados al microscopio, las identificaciones de los microorganismos presentes en los diferentes medios de cultivo fueron realizados bajo la supervisión de la cátedra de Microbiología Veterinaria de la Universidad Ricardo Palma.

### **3.6. Preparación de medios de cultivos**

La preparación de los medios de cultivo dependió de cada fórmula que contiene el envase respectivo. Por lo general vienen en polvo y se usa 50gr / litro de agua. Luego disolvemos en agua destilada. Se disuelve a baño maría o al horno microondas. Debe observarse la ausencia total de gránulos en las paredes del frasco, entibiamos luego de lograr la disolución total del agar en polvo, a continuación, esterilizamos mediante la autoclave, luego pasamos a entibiar para poder manipular y servir el contenido en las placas Petri. El plaqueo se realiza cuando el agar está en estado líquido. Es necesario hacerlo rápidamente para evitar el enfriamiento y por lo tanto la solidificación. Luego de la solidificación, las placas se guardan volteadas, las cuales incuban en la estufa al menos 12 horas para observar posible contaminación, este sería el control de calidad. (Ceino, 2017: párr. 10)

### **3.7. Método de lavado y filtrado.**

Se realizó la mezcla realizada fue de 1:10. Los paquetes de gasas fueron embebidos en 1000ml de agua destilada y agitados durante 3 minutos en un matraz previamente esterilizado en autoclave, transcurrido dicho tiempo se tomó el líquido y se dividió en tres porciones para el filtrado con el filtro de membrana. La membrana fue sembrada en los agares.

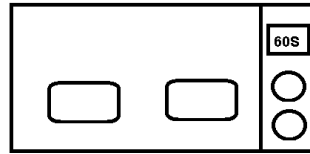
El filtrado al vacío es una técnica de separación de mezclas de sólido líquido. La mezcla se introduce en la parte superior del equipo al vacío y

por medio del filtro de membrana recolectaremos los microorganismos que contenga el lavado; posteriormente se procederá al sembrado en los agares.



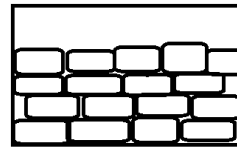
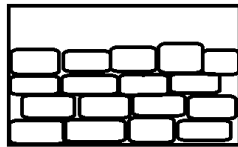
Figura N° 2. Máquina de Filtrado al vacío y motor al vacío.

### 3.8. Procedimiento de lavado y sembrado



1) Exposición al horno microondas

2) Paquete de gasas en papel kraft



2) Paquete de gasas en papel arado medico

3) Retiramos dos paquetes al azar y procedimos al lavado. (Homogenización por 3



3) Retiramos dos paquetes al azar y procedimos al lavado. (Homogenización por 3 minutos)

4) realizamos el filtrado para los 3 agares por muestra.



4) realizamos el filtrado para los 3 agares por muestra.

5) siembra de una membrana de filtro en cada agar.



5) siembra de una membrana de filtro en cada agar.



Guardamos las muestras en la estufa por 7 días a 37grados.



## IV. RESULTADOS

Las muestras de gasa consideradas como “control” (no sometidas a la acción del microondas) para ambos tipos de empaques presentaron contaminación fúngica y bacteriana, sirviendo como punto de comparación para los siguientes muestreos en el tiempo. Los microorganismos observados al microscopio fueron clasificados como bacilos gram positivos y el agente fúngico *Penicillium spp*

Tras ser sometidos a la exposición a las ondas electromagnéticas de alta frecuencia del horno microondas, los resultados fueron los siguientes:

El día 0 (tras la exposición a la acción del microondas), las muestras procedentes a ambos tipos de empaque dieron positivo a hongos y negativo a bacterias, como se puede ver en la tabla N 1 y 2.

El otro muestreo realizado 2 días tras la exposición del material de estudio a las ondas electromagnéticas del horno microondas, ambos tipos de empaques continuaron presentando contaminación por hongos, pero no por bacterias.

El muestreo siguiente realizado 4 días tras la exposición a la acción del horno microondas, en el caso de las gasas envueltas en papel kraft fue positivo para hongos y bacterias, mientras que las gasas envueltas en papel grado médico solo presentaron contaminación por hongos.

Los siguientes muestreos realizados 7 días tras la exposición de las gasas a las ondas electromagnéticas del horno microondas, solo incluyeron al material envuelto en papel grado médico, puesto que los empaques en papel kraft ya estaban contaminados. Estos muestreos arrojaron que, si bien el empaque en papel grado médico presentaba hongos desde el día 0, aún no presentaba crecimiento bacteriano.

El siguiente muestreo realizado 9 días tras la exposición a la actividad del horno microondas, arrojó que el material empacado con papel grado médico tenía presencia bacteriana, además de la contaminación fúngica previamente detectada.

Paralelamente se procedió a la determinación de los agentes fúngicos encontrados desde el día 0 de muestra, correspondiendo todos los casos al mismo agente fúngico: *Penicillium spp.*

En el caso de los cultivos positivos a bacterias, estos fueron sometidos a tinción Gram observando en todos los casos bacterias del tipo bacilos gram positivos.

Tabla 1: Tiempo de viabilidad de gasas esterilizadas en horno microondas envueltos en papel kraft para hongos

Mayo/ Junio /Días	0D 22 Mayo	2D 24 Mayo	4D 26 Mayo	7D 29 Mayo	9D 31 Mayo	11D 02 Junio	14D 05 Junio	16D 07 Junio	
PAPEL KRAFT	X	X	X	X	X	X	X	X	HONGOS

POSITIVO (X) NEGATIVO (-)

Tabla 2: Tiempo de viabilidad de gasas esterilizadas en horno microondas envueltos en papel kraft para bacterias

Mayo/ Junio /Días	0D 22 Mayo	2D 24 Mayo	4D 26 Mayo	7D 29 Mayo	9D 31 Mayo	11D 02 Junio	14D 05 Junio	16D 07 Junio	
PAPEL KRAFT	-	-	X	X	X	X	X	X	BACTERIAS

POSITIVO (X) NEGATIVO (-)

Tabla 3: Tiempo de viabilidad de gasas esterilizadas en horno microondas  
envueltos en papel grado médico para hongos

Mayo/ Junio /Días	0D 22 Mayo	2D 24 Mayo	4D 26 Mayo	7D 29 Mayo	9D 31 Mayo	11D 02 Junio	14D 05 Junio	16D 07 Junio	
PAPEL CREPADO GRADO MEDICO	X	X	X	X	X	X	X	X	HONGOS

POSITIVO (X) NEGATIVO (-)

Tabla 4: Tiempo de viabilidad de gasas esterilizadas en horno microondas  
envueltos en papel grado médico para bacterias

Mayo/ Junio /Días	0D 22 May o	2D 24 May o	4D 26 May o	7D 29 May o	9D 31 May o	11D 02 Juni o	14D 05 Juni o	16D 07 Juni o	
PAPEL CREPADO GRADO MEDICO	-	-	-	-	X	X	X	X	BACTERIAS

POSITIVO (X) NEGATIVO (-)

## V. DISCUSIÓN

Las gasas utilizadas para los procedimientos médicos, si no son esterilizadas por algún método, siempre contendrán carga bacteriana y fúngica, como se pudo comprobar al comienzo de este estudio cuando se muestreó el material no esterilizado, es por ello que deben ser sometidas a estos procesos para así aminorar las probabilidades de una infección por fómites.

A diferencia de la investigación realizada por Risco el año 2003, en el presente trabajo se utilizaron otros materiales de empaquetado que fueron el papel grado médico y papel kraft, ya que son más usados en medicina veterinaria en Lima; estos materiales, a diferencia del material plastificado hermético utilizado en la investigación de Risco, son más porosos. Asimismo, el mismo autor menciona que en su estudio se utilizaron gasas previamente esterilizadas por autoclave para posteriormente ser inoculadas manualmente con una cantidad determinada de patógenos específicos seleccionados por el autor de la investigación, mientras que en este estudio se utilizó material expuesto a contaminación ambiental no contralada, que fue preparado en un área común no estéril de la misma manera que se hace en los centros veterinarios limeños.

De acuerdo a lo presentado en las tablas 1 y 3 se encontró presencia de hongos desde el primer día de muestreo, demostrando que las ondas electromagnéticas de alta frecuencia no eliminaban este tipo de organismos. Tras analizar las muestras que dieron positivo, el resultado fue el hongo *Penicillium spp* que es un microorganismo natural en la mayoría de superficies en el medio ambiente.

La humedad que presenta la ciudad de Lima, la absorción que tiene el material estudiado (gasa) y la porosidad de los papeles de envoltorio utilizados, así como la presencia de microorganismos en el medio ambiente

serían los posibles factores que favorecieron la presencia de este organismo fúngico en este estudio y a diferencia de la investigación realizada por Risco, realizada bajo condiciones de laboratorio.

Continuando con el estudio, podemos ver en la tabla 2 que el papel kraft presenta contaminación por bacterias 4 días tras ser expuesto a la radiación del horno microondas, mientras que el papel de grado médico presenta la contaminación por bacterias en el muestro realizado 9 días tras ser expuesto a la radiación del horno microondas, pudiendo así observar que el papel de grado médico presenta un mejor desempeño dándonos 5 días más libres de contaminación bacteriana.

Si bien el hongo *Penicillium spp* se considera un hongo ambiental, la literatura menciona que dependiendo de factores como la inmunidad del paciente y otros, puede llegar a ocasionar problemas de salud en humanos. (Barcus y Burdete, 2005: párr. 7)

Con respecto a las bacterias, en este estudio se encontraron bacilos gram positivos. Esto difiere con la literatura que menciona la presencia de *S. Aureus*, *S. epidermidis*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella*, *E. coli* y otras enterobacterias en infecciones nosocomiales, ninguna de las cuales pertenece a la categoría de la bacteria encontrada. (Nodarse, 2002: párr. 36 ; Pérez et al. 2010:2; Velarde, 2016: 5-6)

## VI. CONCLUSIONES

- 1) Tras la exposición del material de gasa, envuelto en dos tipos de empaque no se logró la esterilización completa debido a la presencia de *Penicillium spp* incluso inmediatamente tras la exposición a las ondas electromagnéticas del horno microondas.
- 2) El tiempo libre para bacterias utilizando papel kraft es de 2 días tras ser expuesto a la radiación del horno microondas y que el tiempo para el papel de grado médico es de 7 tras ser expuesto a la radiación del horno microondas.
- 3) No se logra una completa esterilización por ondas electromagnéticas de alta frecuencia del horno microondas para hongos ambientales (*Penicillium sp.*) si se utilizan papel kraft o papel de grado médico como envoltorios.
- 4) En cuanto a la contaminación frente a bacterias, el papel grado médico resulto más eficiente en el tiempo que el papel kraft, ya que se mantuvo 5 días más sin contaminarse.

## VII. RECOMENDACIONES

- 1) De preferencia utilizar el papel grado médico que proporciona un mayor tiempo de viabilidad contra bacterias.
- 2) Realizar más estudios para identificar qué tipo de *Penicillium spp* se encuentra en gasas no estériles, en papel kraft y papel grado médico, así como en las superficies donde se prepara el material hospitalario.
- 3) Siempre realizar la desinfección del área donde se va a realizar la preparación del material y que el personal que realiza el trabajo se encuentre con la indumentaria necesaria para no aumentar la contaminación.
- 4) Realizar nuevos estudios para determinar la efectividad antifúngica de las ondas electromagnéticas del horno microondas como método de esterilización de material de gasa y algodón hospitalarios.
- 5) Realizar futuros estudios con el fin de estandarizar y perfeccionar la técnica de esterilización del horno microondas para que sea un método seguro y fiable.
- 6) En futuros estudios realizar la tipificación detallada de los microorganismos hallados en los distintos medios de cultivos con el fin de poderlos clasificar según su género y especie.
- 7) Realizar futuros estudios que evalúen la posible presencia de *Penicillium sp.* en ambientes y superficies de trabajo veterinario, en el material de gasa no estéril, así como en los materiales de empaque utilizados en la presente investigación.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Barcus, A. y Burdette, S. (2005). Invasión y difusión de las enfermedades relacionadas con el *Penicillium chrysogenum*. En *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, EEUU. Recuperado de: [http://viaclinica.com/article.php?pmc\\_id=1343575](http://viaclinica.com/article.php?pmc_id=1343575)
- Borja, A., Burga, P., Chang, J., Loyola, W. y Llanos, F. (2002). *Manual de desinfección y esterilización hospitalario*. Agencia de los estados Unidos para el Desarrollo Internacional. Recuperada de: <http://assets.mheducation.es/bcv/guide/capitulo/8448164180.pdf>
- Cervantes, G., Rafael, G. y Paz, M. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. EN *Revista Latino Americana*. Recuperado de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
- Ceino, F. (2017). *Guía Práctica de Clase de Microbiología*. Universidad Ricardo Palma., Lima. Práctica N: 7-9.
- Centro de Recerca en Sanitat Animal (CRESA). (2017) Laboratorio Cresa. España. Recuperado de: <http://www.cresa.es/granja/salmonelosis.pdf>
- Fossum, T., Hedlund, Ch., Johnson, A., Schulz, K., Howard, B., Willard, M., Bahr, A. y Carrol, G.. (2008). *Cirugía en pequeños animales*. Tercera edición. España: Elsevier.
- García Villacorta, G. (2017). *Presencia de hongos del género Penicillium en los ambientes ambulatorios de dos centros de salud de la región Loreto*, 2015. Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC), Lima. Recuperado de:



[http://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNAP\\_73f84ff4a7fdbc2fb4c3d420515182fd](http://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNAP_73f84ff4a7fdbc2fb4c3d420515182fd)

- Girard, R. y Perraud, M. (2002). *Prevención de las infecciones nosocomiales*, Guía Práctica 2da edición, Organización Mundial de la Salud (OMS), México. Recuperado de:

[http://www.who.int/csr/resources/publications/ES\\_WHO\\_CDS\\_CSR\\_EPH\\_2002\\_12.pdf](http://www.who.int/csr/resources/publications/ES_WHO_CDS_CSR_EPH_2002_12.pdf)

- Gutiérrez, S. (2001a). Trabajo práctico número 8, *Esterilización por calor húmedo*. Recuperado de:

[http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_farmacia/catedra\\_Micro/10\\_Esterilizaci%C3%B3n\\_por\\_calor\\_h%C3%BAmedo.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedra_Micro/10_Esterilizaci%C3%B3n_por_calor_h%C3%BAmedo.pdf)

- Gutiérrez, S. (2001b). Trabajo práctico número 7: *Esterilización por calor seco*. Recuperado de:

[http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_farmacia/catedra\\_Micro/10\\_Esterilizaci%C3%B3n\\_por\\_calor\\_seco.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedra_Micro/10_Esterilizaci%C3%B3n_por_calor_seco.pdf)

- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. (2016). *Penicillium spp.* España. (2016). Recuperado de:

<http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Penicillum%20spp%202017.pdf>

- Laboratorio Sartorius. (s,f). *Filtros de membrana estériles*. España. Recuperado de:

[https://www.sartorius.es/sartoriusES/es/EUR/Productos/Laboratorio/Productos-de-microbiolog%C3%ADa/Determinaci%C3%B3n-cuantitativa-microbiana/Filtros-de-membrana/Filtros-de-Membrana-Est%C3%A9riles/p/M\\_Sterile\\_Membrane\\_Filters?childprod=11406-47----ACN](https://www.sartorius.es/sartoriusES/es/EUR/Productos/Laboratorio/Productos-de-microbiolog%C3%ADa/Determinaci%C3%B3n-cuantitativa-microbiana/Filtros-de-membrana/Filtros-de-Membrana-Est%C3%A9riles/p/M_Sterile_Membrane_Filters?childprod=11406-47----ACN)

- Milla, R y Morales, G. (s,f). *Bacterias mesófilas*. EcuRed, Ecuador. Recuperado de:  
[https://www.ecured.cu/Bacterias\\_mes%C3%B3filas](https://www.ecured.cu/Bacterias_mes%C3%B3filas)
- Nodarse, R. (2002). *Visión Actualizada de las infecciones intrahospitalarias*. Hospital Militar Central, Cuba. Recuperado de:  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0138-65572002000300008](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000300008)
- Osorio, C. (2014). *Método de la filtración*. Blog de Ciencia. Recuperado de: <http://cristel98.blogspot.pe/2014/09/filtracion.html>
- Perez, L., Margot, I., Perez, N., Patiño N. y Calvimonte, O. (2010, Noviembre 28). Infecciones intrahospitalarias: agentes, manejo actual y prevención. En *Rev Cient Cienc Med* 2010;13(2): 94-98. Recuperado de:  
[http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1817-74332010000200009](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1817-74332010000200009)
- “*Pseudomona aeruginosa*”. (2016). Estados Unidos: Blog Carolina. Recuperado de: <http://pseudomonaeruginosa.blogspot.pe/>
- Risco, G. (2003). *El horno microondas en la esterilización de material de fibra de algodón*. Tesis para optar el Título de Médico Veterinario. Universidad Alas Peruanas. Perú, Lima.
- Ríos-Tobon, S., Agudelo, R. y Gutiérrez, L. (2017, Febrero 15). Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad de agua para consumo humano. En *Rev. Fac. Nac. Salud Pública*; 35(2): 236-247. doi: 10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08. Colombia. Recuperado de:  
<http://www.scielo.org.co/pdf/rfnsp/v35n2/0120-386X-rfnsp-35-02-00236.pdf>

- Universidad Nacional de San Luis. (2016). *Guía de trabajos prácticos: Microbiología e Inmunología*. Argentina. Recuperado de:  
<https://microbiologiaunsl.wikispaces.com/file/view/Gu%C3%ADa+de+TP+Biol+Mol+2016+actual.pdf>
  
- Velarde, M. (2016). *Examen microbiológico y reporte de control microbiológico de productos farmacéuticos no estériles*. Universidad Norbert Wiener; Facultad de farmacia y bioquímica; Lima. Recuperado de:  
<https://es.slideshare.net/josuesilva526/examen-microbiologico-y-reporte-de-control-microbiologico-de-productos-farmaceuticos-no-esteriles>

## IX. ANEXOS

9.1. Prueba de laboratorio: positivo a hongos.



### Laboratorio de Patología Veterinaria

Jr. Sánchez Cerro 1838  
Jesús María, Lima 11.  
Telef: 4632008 / 2614833 /# 941876224  
[E-mail: pato-vet@hotmail.com](mailto:pato-vet@hotmail.com)  
[www.patovet.com](http://www.patovet.com)

FECHA DE RECEPCIÓN	06/06/2017	CÓDIGO
BOLETA / FACTURA		6797-PC-17

Nombre del Propietario / Solicitante
ALEXEIVICH CUCHO VILCHEZ

Datos del Paciente		Información de la Muestra	
Especie: -	Edad: 26/05/2017	<input type="checkbox"/> RASPADO	
Paciente: PAPEL KRAFT 1	Sexo: -	<input type="checkbox"/> SECRECIÓN ÓTICA	

CULTIVO DE HONGOS			
Nombre Científico	Positivo	Nombre Científico	Positivo
<i>Alternaria sp.</i>		<i>Malassezia pachydermatis</i>	
<i>Aspergillus sp.</i>		<i>Microsporum canis</i>	
<i>Aspergillus fumigatus</i>		<i>Microsporum gypseum</i>	
<i>Aspergillus niger</i>		<i>Penicillium sp.</i>	x
<i>Blastomyces sp.</i>		<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	
<i>Candida sp.</i>		<i>Trichophyton rubrum</i>	
<i>Cryptococcus sp.</i>		<i>Trichophyton sp.</i>	
<i>Curvularia sp.</i>		-	
<i>Fusarium sp.</i>		-	


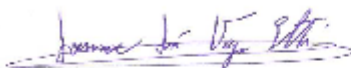
Observaciones:	
Lima, 16 de Junio del 2017	
	
Dra. Melisa Grisolle Patóloga Veterinaria C.M.V.P 6412	Dr. Ivanoé Vega Gatti Patólogo Veterinario C.M.V.P 695



Figura N° 3. Máquina de filtrado



Figura N° 4. Muestreo

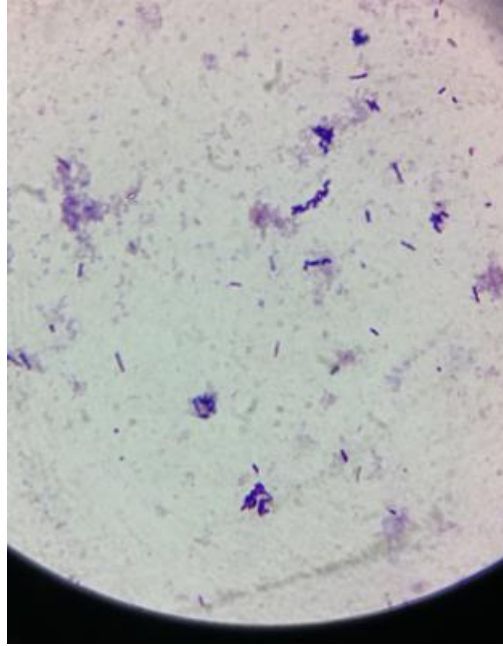


Figura N° 5. Positivo a Bacterias (Gram positivas: Bacilo en microscopio)

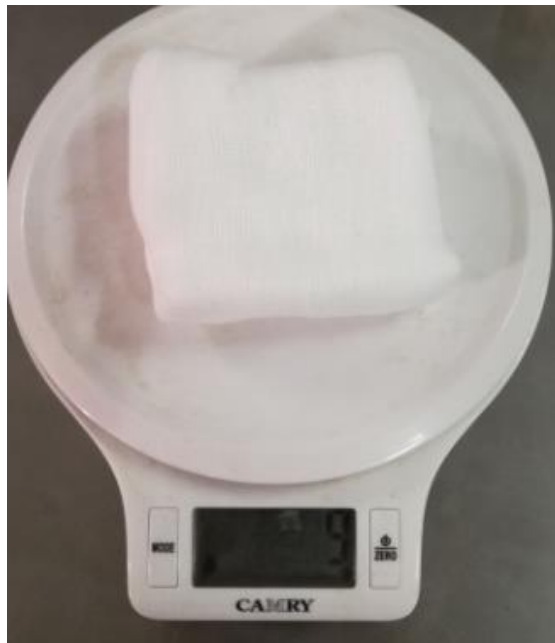


Figura N° 6. Pesaje de la gasa