

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Facultad de Recursos Naturales Renovables



**CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AIRE Y SUPERFICIES EN
INTERIORES DEL COMEDOR DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL
AGRARIA DE LA SELVA – TINGO MARIA**

Tesis

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AMBIENTAL

MANSILLA VALLES, Luis Manuel

TINGO MARIA – PERU

2019



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María – Perú



FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 007-2020-FRNR-UNAS

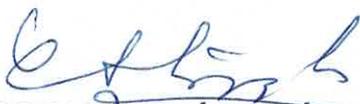
Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 13 de Diciembre de 2019, a horas 7:30 p.m. en la Sala de Sesiones del Departamento Académico de Ciencias Ambientales, de la Facultad de Recursos Naturales Renovables para calificar la Tesis titulada:

“CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AIRE Y SUPERFICIES EN INTERIORES DEL COMEDOR DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA – TINGO MARIA”

Presentado por el Bachiller, **MANSILLA VALLES, LUIS MANUEL**, después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara APROBADA con el calificativo de **“MUY BUENO”**

En consecuencia, el sustentante queda apto para optar el Título de **INGENIERO AMBIENTAL**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para el otorgamiento del Título correspondiente.

Tingo María, 16 de Marzo de 2020


Dr. CÉSAR SAMUEL LÓPEZ LÓPEZ
PRESIDENTE


Ing. CÉSAR AUGUSTO GOZME SULCA
MIEMBRO


Ing. MSc. LUIS A. SANCHEZ ROMERO
MIEMBRO




Ing. MSc. VICTOR M. BETETA ALVARADO
ASESOR

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

Facultad de Recursos Naturales Renovables

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AMBIENTAL



CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AIRE Y SUPERFICIES EN INTERIORES DEL COMEDOR DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA – TINGO MARIA

Autor	:	MANSILLA VALLES, Luis Manuel
Asesor	:	Ing. BETETA ALVARADO, Víctor Manuel
Programa a investigar	:	Microbiología
Línea de investigación	:	Biodiversidad
Eje temático de investigación	:	Caracterizar microorganismos del suelo, agua y aire
Lugar de ejecución	:	Laboratorio de Microbiología - UNAS
DURACIÓN	Fecha de inicio	: 03 de mayo del 2019
	Termino	: 03 de noviembre del 2019
Financiamiento	Propio	: S/. 6,671

INDICE

Página

I. INTRODUCCION	1
1.1. Objetivo general.....	2
1.1.1. Objetivos específicos.....	2
II. REVISION DE LITERATURA	3
2.1. Aerobiología.....	3
2.1.1. Aeromicología.....	4
2.1.2. Aerobacteriología.....	4
2.1.3. Biometeorología.....	4
2.2. Contaminación del aire	4
2.2.1. Microorganismos presentes en el aire	5
2.2.2. Tipos de microorganismos presentes en el aire	5
2.2.3. El aire como medio de transmisión y hábitat de microorganismos .	6
2.2.4. Contaminación en superficies.....	8
2.2.5. Microorganismos	8
2.3. Mecanismos de contaminación en ambientes internos	9
2.3.1. Contaminantes físicos	9
2.3.2. Contaminantes químicos	9

2.3.3. Contaminantes Biológicos	9
2.4. Factores que intervienen en el crecimiento microbiano	9
2.4.1. Bacterias.....	11
2.4.2. Fungi (Hongos).....	12
2.5. Elementos climáticos que actúan en el proceso de los microorganismos.....	14
2.5.1. Humedad relativa.....	15
2.5.2. Temperatura	15
2.5.3. Oxígeno	16
2.5.4. Materia orgánica.....	16
2.6. Patogenicidad de los microorganismos.....	16
2.7. Grado de contaminación microbiana ambiental	17
2.8. Comedor.....	17
III. MATERIALES Y METODOS.....	19
3.1. Lugar de ejecución	19
3.1.1. Ubicación política.....	19
3.1.2. Ubicación geográfica	19
3.1.3. Aspectos ambientales.....	20
3.2. Materiales.....	21
3.2.1. Medios de cultivos para pruebas bioquímicas	21
3.2.2. Reactivos.....	21
3.2.3. Equipos.....	22

3.3. Métodos	22
3.3.1. Tipo de investigación	22
3.3.2. Variables dependientes	22
3.3.3. Variables independientes.....	22
3.3.4. Diseño experimental	22
3.3.5. Reconocimiento del área de estudio.....	24
3.3.6. Muestras.....	24
3.3.7. Preparación de BHI para muestreo	25
3.3.8. Determinación de bacterias del aire	26
3.3.9. Determinación de fungí del aire	26
3.3.10. Recuento de microorganismos	27
3.3.11. Preparación de medios de enriquecimiento.....	28
3.3.12. Cultivo en medios enriquecedores.....	29
3.3.13. Pruebas de diferenciación bioquímica	29
3.3.14. Coloración de bacterias	32
3.3.15. Microcultivo fúngico	33
3.3.16. Reconocimiento de riesgos potenciales para la salud	34
IV. RESULTADOS	35
4.1. Bacterias y fungi del aire interno y en diferentes superficies del comedor.....	35
4.1.1. Microorganismos a partir del aire.....	35
4.1.2. Microorganismos a partir de superficies	36

4.2. Identificación de bacterias	38
4.2.1. Bacterias encontradas a partir del aire	38
4.2.2. Bacterias encontradas a partir de superficies	39
4.3. Identificación de fungí.....	40
4.3.1. A partir del aire	40
4.3.2. A partir de la superficie	41
4.4. Riesgos potenciales a la salud por la presencia de microorganismos en el aire y superficie.....	43
V. DISCUSIÓN.....	47
VI. CONCLUSIONES	50
VII. RECOMENDACIONES.....	51
ABSTRACT	52
VIII.REFERENCIA BIBLIOGRAFICA	53
IX. ANEXOS.....	60

INDICE DE CUADROS

Cuadros	Páginas
1. Número de microorganismos UFC/cm ³ de aire en los puntos de muestreo del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.....	35
2. Número de microorganismos UFC/cm ² de superficie en los puntos de muestreo del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva... ..	37
3. Cuadro resumen, bacterias presentes en el aire por punto de muestreo en el comedor UNAS.....	39
4. Cuadro resumen, bacterias presentes en la superficie por punto de muestreo en el comedor UNAS.....	40
5. Géneros de Fungí presentes en el aire por zona de muestreo en el comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.....	41
6. Géneros de Fungí presentes en la superficie por zona de muestreo en el comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.....	42
7. Riesgos potenciales y tratamiento para bacterias encontrada.	43
8. Riesgos potenciales y tratamiento para fungi encontrados.	46
9. Bacterias identificadas en pruebas bioquímicas de la primera repetición.	61
10. Bacterias identificadas en pruebas bioquímicas de la segunda repetición.....	62
11. Bacterias identificadas en pruebas bioquímicas de la tercera repetición.....	63

12. Promedios de UFC/cm ³ en dilución 10 ³ en aire.....	64
13. Promedios de UFC/cm ² en dilución de superficie.....	64
14. Especies bacterianas en los puntos de estudio, aire.....	65
15. Especies bacterianas en los puntos de estudio, superficie.	65
16. Género fungí identificadas en los puntos de estudios, aire.	66
17. Género fungi identificadas en los puntos de estudios, superficie.	66
18. Número de especies bacterianas identificadas en aire y superficie.	66
19. Número de especies de fungi identificadas en aire y superficie.	67
20. Perú se encuentra en la latitud -9.1899672 y longitud -75.015152.	67
21. Tabla del IMVIC.....	67
22. Tabla de identificación de bacterias por reacciones diagnósticas, clave para separar los distintos géneros de bacterias entéricas (BROCK, 1991).....	68

INDICE DE FIGURAS

Figuras	Páginas
1. Mapa del comedor y Laboratorio de Microbiología General.	20
2. Flujograma	23
3. Plano de las áreas del comedor (elaboración propia).	24
4. Cálculo del número de microorganismos por el método de diluciones seriadas.....	28
5. Cantidad porcentual de organismos en el aire.	36
6. Cantidad porcentual de organismos en superficies.....	38
7. Laboratorio de Microbiología General donde se analizó las muestras.	69
8. Balanza analítica y balanza analíticas digital, usadas para los análisis.	69
9. Incubadora de 37°C y horno usado para análisis.....	70
10. Baño María usado para los análisis.....	70
11. Autoclave y baño maría usados para los análisis.....	71
12. Contador de colonias e incubadora a temperatura ambiente.	71
13. Refrigerador usado para conservar las muestras.....	72
14. Microscopio electrónico usado para los análisis.....	72
15. Reactivos usados en el análisis de aire y superficie.....	73
16. Preparado de caldo BHI en 100ml de H ² O en matraces Erlenmeyer.	73
17. Materiales de muestreo de aire transportados en caja hermética.	74

18. Toma de muestra de aire en la entrada del comedor de la UNAS.	74
19. Toma de muestra de aire en el centro del comedor de la UNAS.	75
20. Toma de muestra de aire en la cocina del comedor de la UNAS.	75
21. Toma de muestra de superficies de la entrada del comedor de UNAS.	76
22. Toma de muestra de superficies del centro del comedor de la UNAS.	76
23. Toma de muestras de superficie de la cocina del comedor de la UNAS. ...	77
24. Aislamiento de bacterias y fungi en placas Petri.	77
25. Pesado de reactivos.	78
26. Medios enriquecedores (CLED, Mac Conkey, Manitol Salado, M77).	78
27. Preparación de medio enriquecedor Mac Conkey.	79
28. Preparación de medio enriquecedor M77.	79
29. Preparación de medio enriquecedor Manitol Salt.	80
30. Preparación de medio enriquecedor CLED.	80
31. Medios enriquecedores preparados.	81
32. Sembrado de bacterias de los matraces hacia los medios enriquecedores.	81
33. Tubos esterilizados para las pruebas bioquímicas.	82
34. Tubos listos para el sembrado de bacterias (pruebas bioquímicas).	82
35. Siembra por puntura, estrías y enjuague en pruebas bioquímicas.	83
36. Colorantes usados en reacciones bioquímicas.	83
37. Agregando los colorantes a las pruebas bioquímicas.	84
38. Lectura de pruebas bioquímicas.	84
39. Lectura de pruebas bioquímicas.	85
40. Preparado de placas para el cultivo de fungi.	85
41. Preparación para el cultivo de fungi.	86

42. Micro cultivo de fungi.....	86
43. Prueba de coloración.....	87
44. Prueba de coloración.....	87
45. Muestras de hongos en láminas porta objetos y cubre objetos.....	88
46. Observando bacterias y fungi por medio de un microscopio.....	88
47. Enterobacter sp observado mediante la visualización microscópica (100X).	89
48. Lactobacillus sp observado al microscopio con aumento de 100X.	89
49. Staphylococcus sp observados al microscopio con aumento de 100X.	90
50. Geotrichum sp observado al microscopio con aumento de 40X.....	90
51. Aspergillus sp observado al microscopio con aumento de 40X.....	91
52. Fusarium sp observado al microscopio con aumento de 40X.	91

AGRADECIMIENTO

Agradezco en primer lugar a Dios por protegerme, por guiarme durante mi vida universitaria y por darme las fuerzas necesarias para poder superar obstáculos y lograr mis objetivos.

A la Universidad Nacional Agraria de la Selva, mi Alma Mater, por recibirme y albergarme en sus aulas para poder formarme como profesional.

A los docentes de la Facultad de Recursos Naturales Renovables y a los docentes del Departamento de Ciencias Ambientales, por entregarme sus conocimientos y experiencia profesional que fueron esenciales para la realización de mi carrera profesional.

A mi asesor, el Ing. MSc. Víctor Manuel Beteta Alvarado, por la amistad, conocimientos y orientación para la realización del presente trabajo.

Al Dr. Mblgo, Cesar Samuel López López, por la amistad, orientación, apoyo y conocimientos brindado en el desarrollo del presente trabajo de investigación.

Al Blgo. Cesar Gozme Sulca, por la amistad y apoyo entregado en la realización de este trabajo de investigación.

Al Ing. Richard Sías Rodríguez, por brindarme su amistad, apoyo y conocimientos en el laboratorio de Microbiología General durante la investigación.

A mis padres, Manuel Luis Mansilla Acosta e Yrma Yolanda Valles Rodríguez, por la confianza y apoyo brindado, porque nunca dejaron de creer en mí y porque a pesar de mis faltas y errores nunca me dejaron de demostrar su amor y sé que están orgullosos de la persona en la que me he convertido.

A mis amigos, Alejandro Suárez, Marlon Pascal, Reynoso Bartolo y demás colegas por su amistad, compañía y apoyo.

A todas aquellas personas que directa o indirectamente hicieron posible la culminación del presente trabajo.

DEDICATORIA

A Jehová, mi Dios por sobre todas las cosas, por iluminarme y acompañarme en cada momento de mi vida, por darme las fuerzas necesarias para seguir en este camino de mi formación profesional.

A mis padres, Yrma Yolanda Valles Rodríguez y Manuel Luis Mansilla Acosta por su amor incondicional, porque nunca me dejaron solo, por la confianza que me dieron y porque siempre están impulsándome a luchar y pelear por mis sueños, este título es en gran parte por y para Uds.

A mis hermanas Tatiana, Miluska y Romy Mansilla Valles, por sus grandes amistades, por el apoyo y el aliento incansable para que este logro se haga realidad.

A mis maestros, por su tiempo, por su apoyo así como por la sabiduría que me transmitieron en el desarrollo de mi formación profesional. A la Universidad Nacional Agraria de la Selva y en especial a la Facultad de Ingeniería Ambiental, que me dieron la oportunidad de ser parte de ella.

RESUMEN

Mediante un análisis microbiológico del comedor, se logró aislar bacterias y fungi del aire interno y superficies del comedor. Se determinó que el aire y las superficies dentro del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva presentan microorganismos (bacterias y fungi). Se hizo los análisis en dos (2) componentes ambientales: aire y superficie en tres (3) puntos de muestreo: P1 entrada del comedor, P2 centro del patio del comedor, P3 cocina del comedor. Los tres muestreos se realizaron en los meses de Junio, Agosto y Octubre respectivamente, siendo a la 1pm la hora elegida para la toma de las muestras. Se determinó e identificó la contaminación del aire por microorganismos en el comedor, estos fueron: *Enterobacter agglomerans*, *Staphylococcus sp*, donde la bacteria *Staphylococcus sp* resultó la más patógena. A través de pruebas bioquímicas se encontró 5 especies de bacterias en el aire y 7 especies de bacterias en la superficie. Y mediante la prueba de microcultivo se halló 3 especies de fungi en el aire y 3 especies de fungi en superficie. En total se encontraron 8 especies bacterianas dentro del comedor, las cuales fueron: *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter hafnia*, *Enterobacter sp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus morganii*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus sp*, *Lactobacillus sp*, y 3 especies de fungi, las cuales fueron: *Geotrichum sp*, *Aspergillus sp* y *Fusarium sp*. Se detectó los riesgos potenciales a la salud por la presencia de microorganismos (bacterias y fungi) encontrados en los diferentes puntos del comedor, durante el desarrollo del presente trabajo de tesis. La calidad resultante es moderada.

I. INTRODUCCION

El aseo y la desinfección son técnicas de mucho interés, estos métodos nos permiten mantener en equilibrio la aparición de microorganismos, tanto de bacterias como de fungí en la superficie. La desinfección es un tratamiento que conlleva la eliminación de microorganismos dañinos (forma vegetativa), por medio de la utilización de compuestos químicos o físicos agregados en superficies inertes.

En el comedor de la universidad nacional agraria de la selva, el aseo y desinfección debe ser realizado con mucha frecuencia, las personas que trabajan en contacto con alimentos deben tener un mayor cuidado y tomar decisiones para prevenir la contaminación del ambiente, de los equipos de trabajo, muebles y del personal. La calidad microbiológica del ambiente de la investigación, nos da a conocer el número de microorganismos que existe en una zona. Los individuos también pueden ser un medio u origen contaminante, pues nosotros soltamos un gran número de moléculas al estornudar, desplazarnos, expectorar, pérdida de piel, etc. Varias moléculas al azar, logran transportar microorganismos, estos tienen la facilidad de contaminar los elementos con que se trabaja; en este sentido los antisépticos, que tienen que utilizarse por los trabajadores del comedor para poder desinfectarse la epidermis y tejidos antes de ingresar a sus lugares de trabajo.

Por tal motivo, es que este proyecto será necesario para determinar diferentes superficies en la calidad microbiológica del aire y del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, con la finalidad de identificar microorganismos (bacterias y fungí) presentes en el aire y superficies en dicho ambiente, porque, tanto los alumnos como el personal encargado de la cocina merece contar con un ambiente limpio.

Por lo antes mencionado, se plantea la siguiente interrogante ¿Cuál es la calidad microbiológica del aire y superficies en interiores del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva? Con respecto a lo antes mencionado, planteamos la siguiente hipótesis: El aire y la superficie de diferentes puntos dentro del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva cuenta con un nivel moderado de contaminación.

1.1. Objetivo general

Determinar calidad microbiológica del aire y superficies en interiores del comedor de la universidad nacional agraria de la selva – Tingo María

1.1.1. Objetivos específicos

- Aislar las bacterias y fungí (hongos) en medios de cultivos presentes en el aire interno y en diferentes superficies del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.
- Realizar pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias.
- Realizar microcultivo para la identificación de fungí (hongos).
- Detectar los riesgos potenciales a la salud por la presencia de microorganismos en el aire y superficie en los puntos de estudio.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1. Aerobiología

En la antigüedad, el vocablo Aerobiología fue agregado como una ciencia multidisciplinaria por Fred C. Meier, que se ocupa del estudio de partículas de origen biológica aerovagantes en la atmósfera como son las bacterias, partes de líquenes y esporas de hongos. Indico que la Aerobiología “incluía el estudio de todas las partículas, tanto viables como no viables, que son transportadas pasivamente por el viento bajo la acción de las propiedades atmosféricas” (GREGORY, 1973).

(NILSSON, 1992) Parte de la biología que se ocupa de los microorganismo, del cual se estudia partículas orgánicas tales esporas de hongos, bacterias, polen suspendidos en el aire se denomina Aerobiología. Esta ciencia, se ha ido ganando poco a poco un nombre hasta lograr abarcar aún más áreas de aplicación científica. Todas sus ramas de estudio son asociadas e interdisciplinarias, y estas necesitan la ayuda de demás áreas de estudio (agronomía, medicina, física, botánica, zoología, ecología, etc.) (FERNANDEZ, S. 2012). Es una ciencia muy extensa, se relaciona muy estrechamente con la botánica y una relación selectiva con la alergología. (MORALES *et al.*, 2004).

La aerobiología incluye ramas como la aeromicología, que se encarga del análisis de la variación en el tiempo y espacio de la carga fúngica en la atmósfera; biometeorología, esta ciencia está encargada de ver y estudiar la

interacción que tienen los organismos con los procesos atmosféricos (AIRA *et al.*, 2005).

2.1.1. Aeromicología

La aeromicología está encargada de investigar los acontecimientos, cambios espacial y temporal de la carga fúngica de la atmósfera, como también el dominio de las causas meteorológicas sobre dichas variaciones (MORALES *et al.*, 2004).

2.1.2. Aerobacteriología

Es la ciencia que se encarga del estudio de las bacterias que se encuentran presentes en el aire, así sea en exteriores (patios, calles, medio ambiente, etc.) como en interiores (casas, hospitales, mercados, etc.) (HERRERA, K. 2009).

2.1.3. Biometeorología

(AULICIEMS, A. 1981) Es la ciencia que estudia interdisciplinaria relación de tierra y la biosfera la cual se denomina biometeorología.

2.2. Contaminación del aire

(VAQUERO DE LA HOZ, 2011). La contaminación del aire es una de los principales riesgos de salud humana a nivel mundial, la expulsión de fábricas, esporas, el moho, están suspendidas de partícula solido suspendida.

La toxicidad del aire contaminado es dañino al ser humano ya que presenta determinado problemas de salud entre ello riesgo de problemas del corazón y pulmón, a los mayores de la tercera edad y contaminados no solo en el exterior, también en el interior casas comedores donde afecta la salud.

2.2.1. Microorganismos presentes en el aire

El aire se estudia mediante la ciencia denominada “Aerobiología” sobre la cual, DE LA ROSA *et al.* (2002) menciona que la aerobiología es una ciencia multidisciplinar. Los aspectos aplicados al aire en la dispersión tiene el siguiente: supervivencia, movimiento y comportamiento en la cual interactúa en la parte de microorganismo en flora y fauna.

PASTOR (2010) La dispersión de los microorganismo que están en espacio es de gran utilidad para la investigación ya que afecta flora, fauna y seres humanos y coopera con la degradación de metales.

Los microorganismos se trasladan a través de partículas de polvo, células, rocío, hojas secas, al estornudar, hablar o toser. La actividad de manufactura o sector agrario, así como la presencia de seres vivos en la zona influye en la cantidad de microorganismos en el aire. (KONEMAN, *et al.* 2008)

2.2.2. Tipos de microorganismos presentes en el aire

Microorganismos como hongos, bacterias y virus se encuentran en el aire. Dichos microorganismos se encuentran como células vegetativas y frecuentemente en fase de esporulación; metabólicamente menos activas las esporas y tolerantes a los cambios atmosféricos. Con frecuencia en el aire se separan bacterias esporuladas del genero *Clostridium*, *Actinomicetos* y *Bacillus* (UNDERWOOD, 1992).

2.2.3. El aire como medio de transmisión y hábitat de microorganismos

Los microorganismos utilizan el aire como medio de dispersión veloz y global; los microorganismos presentes en la atmosfera no son autóctonos, así mismo es notable la propagación de estos y entre la hidrosfera, atmosfera y litosfera en forma gaseosa. De todas maneras la atmosfera no tiene la gran cantidad de microorganismos en su interior por no poseer un ambiente adecuado, sin embargo la troposfera, en las nubes posee concentración de dióxido de carbono, agua y luz, el cual hace de este un ambiente adecuado para el crecimiento microbiano fotoautótrofos.

(ATLAS y BARTHA, 2002) La atmosfera posee una congregación de componente orgánico en la atmosfera de zonas industriales, permite el incremento de microorganismos heterótrofos. No obstante, la «vida en el aire» aún no ha sido comprobada, por lo que su práctica es mínima.

Los microorganismos se dispersan de manera de bioaerosoles, el cual les permite trasladarse extensas distancias a través del aire. En algunos casos los microorganismos han tenido adaptaciones las cuales facilitan su dispersión y supervivencia en la atmosfera. La importancia económica y biológica de los microorganismos en el aire es considerable; ya que son causante de enfermedades de plantas por la propagación de virus, bacterias y hongos, el cual afecta a la producción (WAGGONER, 1983).

Algunas enfermedades y brotes epidémicos en el hombre y animales, son producidos por virus, hongos y bacterias transmitidas por la atmosfera. La contaminación de alimentos y la alteración de materiales

orgánicos como cuero, textiles, papel, otros; son producto de los microorganismos en el aire. Si bien es cierto que los microorganismos a través de su metabolismo (transformando la materia orgánica), producen gases en la atmosfera como anhídrido carbónico, amoníaco, óxido nitroso, óxido nítrico, sulfhídrico; estos son emitidos en pequeñas cantidades comparadas por las emitidas por el ser humano y sus actividades industriales; estos gases contribuyen en el deterioro de ambientes como pinturas, y la corrosión de metales y piedras en monumentos (STETZENBACH, 1997).

(MIQUEL Y CAMBERT, 1901) En la antigüedad se observó una gran cantidad de corpúsculos en el aire. Lucretius (55 a.C.) de las cuales se observaron destellos de polvo brillando en el rayo de luz de la cual concluyo que fue innumerables átomos, más tarde se ratificó que eran microorganismo en el aire gracias al descubrimiento del microscopio. El botánico napolitano observo hongos en forma de esporas, Valerius Cordus, en el siglo XVI, pero fue Micheli en el siglo XVII, el que realizó representaciones graficas de esporas de moho transmitidas en el aire

Pero Pasteur fue el primero que realizo estudios exactos de bacterias en el aire, a través de la perfección de procedimientos, demostrando que no existe generación espontánea. Pasteur utilizo un método que consistió en el traslado y colocado en un tubo de vidrio, para ser disuelto en alcohol el volumen de aire que fue aspirado por algodón-pólvora – éter. Las partículas de aire con esporas de hongos y baterías fueron depositadas en el líquido. Pasteur escribió en 1862: «Hay constantemente en el aire un número variable de corpúsculos cuya forma y estructura anuncian que son organizados. Sus

dimensiones se encuentran alrededor de 1:100 mm. Unos son esféricos, otros ovoides, muchos son translúcidos y parecen esporas de mohos» (PASTEUR, 1862).

2.2.4. Contaminación en superficies

La contaminación en superficies logra proceder a los mecanismos primarios, contaminación, sudoración y el ambiente del entorno donde labora. Desde tiempos de la antigüedad, surgieron enfermedades que influían con la salud de la población de seres humanos que directamente se transmitía por la superficie contaminada.

(FU *et al.*, 2007). La transmisión de enfermedades por ocasión de la contaminación de la superficie contaminada de agente infeccioso hacia un huésped susceptible. De las cuales el índice de contraer la infección de las enfermedades tiene mayores probabilidades a ser contagiados.

2.2.4.1. Microorganismos presentes en superficies

(WEATHERILL, 2008). La minoría de agentes patógenos se encuentra en zonas donde no procede con una buena limpieza por difícil acceso. Las zonas donde es el difícil acceso son: ángulos, soldaduras discontinuas, grietas hay mayor probabilidad para la formación de los microorganismo.

2.2.5. Microorganismos

CRUZ (1989), dice, hoy en día hay varios tipos de microorganismos: mohos, levaduras, bacterias, actinomicetos, protozoos, algas y virus; PASTOR (2010), manifiesta que estos han logrado desarrollar una capacidad singular de sobrevivir que permite que colonicen casi cualquier área

natural en la tierra, los microorganismos en grandes cantidades es superior en zonas de mayor población según DE LA ROSA *et al.* (2002).

2.3. Mecanismos de contaminación en ambientes internos

2.3.1. Contaminantes físicos

(VAQUERO DE LA HOZ, 2011) Alteran la calidad de sus componentes aquellos que contaminan en parte física el ambiente, es decir son diferentes formas de energía que puede producir alteraciones en el ambiente y afectar a la salud. La contaminación a la superficie de la tierra por radioactividad artificial o natural. Así como los Rayos solares, radiaciones ionizantes, el ruido, vibraciones, temperatura, presión, etc.

2.3.2. Contaminantes químicos

(VAQUERO DE LA HOZ, 2011) Son alteraciones del estado natural en materia inerte, inorgánica u orgánica, sintética o natural (nieblas gases, humos, polvo, vapores). De la cual afectan a seres vivos por las sustancias que modifican la composición química de los componentes del medio ambiente.

2.3.3. Contaminantes Biológicos

(PELCAZAR, 1993). Son seres vivos contaminantes que alteran un determinado ciclo de vida y destruyen el entorno del ambiente. Es decir, causan enfermedades de prototipo parasitario e infeccioso.

2.4. Factores que intervienen en el crecimiento microbiano

El ciclo de vida de los microorganismos, es parecido al de los seres vivos, por lo que es necesario el aporte de nutrientes y otros factores el cual varía para cada organismo. En la reproducción de los microorganismos intervienen

dos factores: factor intrínseco donde influyen las singularidad de la sustancia nutritiva; ya que (LLOP *et al.*, 2002).

Otro factor influyente es el de la particularidad propia de los microorganismos, el cual determina el medio favorable para el desarrollo de bacterias, virus y hongos, de la cual los diferentes tipos de alimentación contamina, los resultados se mostraran en el ser humano.

El pH es para medir el grado de alcalinidad o acidez de un alimento que determinan la producción de algunos organismos las cuales mencionamos: aminoácidos, vitaminas y los azúcares, las que favorecen a levaduras y bacterias. (LLOP *et al.*, 2002).

(SENAMHI, 2008) Los métodos a realizarse para de disminuir la humedad de los alimentos adicionar azúcar, el secado. La humedad es un elemento hídrico, es una de las principales causas de contaminación alimenticia donde incrementa en grandes cantidades la propagación del microorganismo.

Las técnicas utilizadas en las industrias alimenticias para bajar los niveles de oxígeno disponibles para el incremento de contaminación la que influye en la presencia de microorganismos, es la técnica al vacío.

La colectividad de gérmenes que afectan a los seres humanos su crecimiento es de los 37° C, que es la temperatura normal del cuerpo humano, ya que nos provocan enfermedades que producen en nuestro organismo. Las temperaturas que oscilan mayor igual de 15°C, se denomina microorganismo psicrófilos, Las temperaturas que oscilan mayor igual de 20 a 40°C, se denomina microorganismo mesófilos, Las temperaturas que oscilan mayor igual de 20 a

30°C, se denomina microorganismo psicotrópicos, Las temperaturas que oscilan mayor igual de 40 a 65°C, se denomina microorganismo termófilo. En las cuales cuando las temperaturas bajas el microorganismos se mantiene inactivo (MISHALSKI, 1985).

2.4.1. Bacterias

Son los causantes de varias enfermedades que sobreviven en medio adecuado, tiene facilidad de producir esporas sin un huésped. En contacto de un medio ambiente adecuado resiste a temperaturas y viven durante años sin alimento y poca agua, y se activa cuando encuentra un ambiente considerado para su desarrollo (PASTOR, 2010).

Según la investigación realizada en la ciudad de Marsella, la cantidad de bacteria aumenta con la velocidad de viento y temperatura. (ROJAS *et al.*, 2010).

2.4.1.1. Enterobacter

Para MANDELL *et al.* (2006), los microorganismos que se encuentran dentro de este género no siempre causan daños en huéspedes sanos. *E. sakazakil*, *E. aerogenes* y *E. cloacae*, es la principal especie de *Enterobacter* siendo las causante de infecciones por este género.

2.4.1.2. Serratia

Según MANDELL *et al.* (2006), la especie *S. marcescens*, se presenta mayormente como infección en personas y *S. liquefaciens* se desarrolla de manera eventual. Se encuentra en el ambiente, las infecciones se contraen de manera exógena. Así mismo, persiste en condiciones adversas, hasta en una

diversidad de desinfectantes, el cual se encuentra frecuentemente en el sistema respiratorio y laceraciones. Su difusión hematológica ocasiona algunos casos de osteomielitis, artritis bacteriana, otras; así mismo la meningitis puede producirse tras tratamientos neurológicos.

2.4.1.3. Proteus

Cocobacilos, gramnegativos, aerobios, pueden presentar pleomorfismo. Desarrollan confluentemente, formando las llamadas “oleadas” sobre la superficie de los medios sólidos (agares). Se hallan presentes en el tracto intestinal humano y animal. Pueden contaminar vegetales con tallo corto, hortalizas, productos cárnicos y alimentos guardados a temperaturas medias (PASCUAL Y CALDERON, 2000).

2.4.1.4. Staphylococcus

Las esféricas células de grampositivas están constituidas como racimos de uvas. Se reproducen rápidamente con una actividad metabólica constante, producen pigmentos y fermentan carbohidratos que cambian de amarillo a blanco. Hay microbianos que son normales en el ser humano y está en cómo huésped en mucosa la piel; El prototipo de inoculación alimenticio es normal enterotoxina estafilocócica termoestable. Los estafilococos desarrollan con rapidez resistencia a muchos antimicrobianos y pueden plantear problemas terapéuticos difíciles. (BARTRAM, 2003).

2.4.2. Fungi (Hongos)

Según BOVALLIUS *et al.* (1978), los hongos son característicamente numerosos en verano, en tanto las bacterias se proliferan en

otoño y primavera, debido a los agentes de exposición de la luz solar, humedad relativa del aire, y la temperatura influyen en ella.

PASCUAL y CALDERON, (2000) manifiestan que existen hongos que afectan a la salud; las levaduras como *Blastomyces dermatitidis*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans*, etc. son frecuentemente infectiva; así mismo los hongos poseen la aptitud de generar toxinas naturales (*Penicillium sp*, *Fusarium sp*, *Aspergillus sp*, etc.). Sin embargo, algunos hongos influyen como aquellos que están involucrados en toxicidad de ello (p. ej., *Aspergillus fumigatus*).

2.4.2.1. Aspergillus

Según SORIANO (2007), las especies de este género son generalmente ubicuas, las cuales pueden aislarse de diversos sustratos, frecuentemente en zonas de alta temperatura. Estos organismos de este crecen de manera acelerada presentando pigmentaciones: marrón – amarillo, negruzco, marrón – negruzco o verdoso, blanquecino.

2.4.2.2. Fusarium

Para JAWETZ (2010), reconocer las especies de este género, son limitadamente diferentes Agar Papa Dextrosa (PDA). Se usa para aislar los hongos, Se utiliza una solución con nutrientes como Para determinar el ataque de este patógeno en las espigas, se observan diversas pigmentaciones las cuales pueden ser blancas – rosado y llegar a un tono anaranjado.

Según SORIANO (2007), se realizaron estudios en los que se relacionó el consumo de maíz contaminado por *Fusarium*.

2.4.2.3. Geotrichum

Según ROMERO (2007), este género de fungí produce Geotricosis, que es una micosis oportunista que ataca a la epidermis y los tejidos orgánicos suaves y húmedos del ser humano. Dicha infección puede ser endógena o exógena, con afecciones pulmonares, sistematizadas como la tuberculosis. Las afecciones cutáneas producen lesiones nodulares cuyo tratamiento se realiza con violeta de genciana y yoduro de potasio.

2.5. Elementos climáticos que actúan en el proceso de los microorganismos

Según GREGORY (1973), las situaciones donde se presenta los estados químicos y físicos atmosféricos no presta garantía para el ciclo de vida del microorganismos de la mayor parte de las cual algunos sobreviven en un lapso corto de vida. Algún microorganismo sobrevive en fase de esporas en situaciones baja de metabolismo por las cuales no necesitan mayores cantidades de nutriente ni agua y tienen paredes gruesas donde son fuertes a los rayos solares. Algunas tienen forma aerodinámica de la cual son muy ligeras en su entorno espacial.

El período de permanencia del microorganismo en el espacio acata al peso, tamaño, forma del microorganismo y la presencia de la intensidad del aire e vientos que someten al sostenimiento en el espacio. Son inconvenientes, que arrastran al suelo a las partículas suspendidas. Las esporas se producen en cantidades prominentes, las cuales aunque mueran en la atmosfera, su dispersión asegura la supervivencia de los microorganismos. La diversidad metabólica y estructural de los microorganismos hace que su supervivencia sea

variable. Las bacterias Gram negativas ya que su pared celular es más gruesa y Gram positivas son más tolerantes. Por ejemplo, *Staphylococcus aureus*. Responsable de abscesos, dermatitis, infecciones localizadas y posibles gastroenteritis (Gram positivo) y *Salmonella typhi*. Bacteria comprometida con el mal conocida como fiebre tifoidea, se traspa por vía fecal-oral: contaminación de aguas, mala disposición de excretas o higiene defectuosa (Gram negativo) (DE LA ROSA *et al.* 2002).

Los componentes fundamentales conforman parte de los microorganismos con la temperatura, la humedad relativa, materia orgánica y el oxígeno (POTTS, 1994).

2.5.1. Humedad relativa

Según LIDWELL (1990), menciona que al disminuir la humedad relativa, disminuye la disponibilidad de agua para los microorganismos, causando deshidratación e inactividad de estos. Durante el secado causan pérdidas fácilmente de las bajas capas atmosféricas. Según se incrementa la altitud, las circunstancias son convenientes para la evaporación ya que las esporas se desarrollan en los hidrometeoros. El desarrollo fúngico limita su crecimiento cuando esta es menor que 65% de humedad relativa. Para el desarrollo de bacterias estas requieren mayor humedad.

2.5.2. Temperatura

La humedad relativa en base a la temperatura está relacionado, lo que hace muy dificultoso separar la reacción de ambos. La troposfera cerca de la superficie, a -80° C y varía de 40° C, en las capas altas y que la variabilidad

de los microorganismos disminuye según varios estudios ante el aumento de la temperatura Según MOHR (1997),

CEPIS (1987). Pendiente alto, índice de incremento de microorganismos, se menciona los siguientes: psicrófilos, mesófilos y Termófilos: Los psicrófilos desarrollan con temperaturas (10 – 20 °C) los mesófilos tienen mejores condiciones en temperatura 20 y 45 °C; debido a que la temperatura del cuerpo humano es de 37 °C donde involucran en las enfermedades a los seres humanos. Los termófilos presentan su óptimo crecimiento a temperaturas elevadas (45 – 55 °C).

2.5.3. Oxígeno

Según MOHR (1997), es la relación de desaprobación entre la agrupación de viabilidad y oxígeno, que desarrollan deshidratación a la exposición. De las cuales se inactivan cuando no hay oxígenos.

2.5.4. Materia orgánica

Según MOHR (1997), insuficiente agrupación de compuesto orgánico en la atmosfera, limita el crecimiento heterótrofo. Por lo que la escasez de agua limita el crecimiento de microorganismos autótrofos.

2.6. Patogenicidad de los microorganismos

MONTAÑO *et al.* (2010), mencionan que las bacterias, protozoarios y virus, afectan a la salud humana.

Se manifiestan que incremento de contagio a seres vivos trasfieren por microorganismos encontrándose en el espacio ambiental y producen enfermedades, exclusivamente, sistema respiratorio. Una ser humano puede

exhalar una media de 500 partículas al toser y de 1 800 a 20 000 en un estornudando, la parte media son menores de 10 μm (DE LA ROSA *et al.* 2002). La mucosidad y la garganta son diseminadas por el carraspeo, los estornudos y el dialogo logrando obtener una velocidad de 300 Km/h se denomina Los microorganismos causales por enfermedades.

2.7. Grado de contaminación microbiana ambiental

Según ARENAS (2003), para estimar el grado de contaminación del aire por fungi, su concentración debe ser menor de 500 UFC/m³ para que el ambiente sea adecuado, mientras que para las bacterias una concentración mayor a 1000 UFC/m³ se considera al lugar como contaminado y por encima de los 1500 UFC/m³ el ambiente se clasifica como altamente contaminado.

2.8. Comedor

Es un espacio designado para el consumo de alimentos por personas en horarios establecidos como desayuno, almuerzo, refrigerio. En un lugar puede haber varios ambientes destinados a esta labor. El servicio y el producto ofrecido en estos ambientes cambia su terminología en: cafetería, restaurant. El espacio designado tiene una cercanía con el ambiente del procesamiento de los alimentos, para que durante la atención estos productos estén de fácil acceso a los huéspedes. De las cuales para ahorra espacio comedor y cocina se encuentra juntos (RAMO TRAVER, 1995).

La Universidad Nacional Agraria de la Selva inicio sus actividades académicas en el año de 1965, en dicho año también se dieron inicio al funcionamiento del comedor. En la actualidad el comedor atiende a un promedio

de 1066.5 alumnos por semestre (983 alumnos en el ciclo 2019 – I y 1150 en el ciclo 2019 – II)

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Lugar de ejecución

3.1.1. Ubicación política

El presente trabajo de investigación se realizó en la sala de mesas y cocina del comedor, se procesaron las muestras en el Laboratorio de Microbiología General de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicado políticamente en:

Distrito : Rupa-Rupa

Provincia : Leoncio Prado

Departamento : Huánuco

3.1.2. Ubicación geográfica

Geográficamente la ciudad de Tingo María está ubicado en las coordenadas latitud 09° 18' 00" longitud 76° 01' 00" a una altitud de 660 m.s.n.m., el comedor se encuentra localizado en las coordenadas UTM (E: 390283M y N: 8970638M) y el Laboratorio de Microbiología general en las coordenadas UTM (E: 390533M y N: 8970291m) a una altitud de 668 m.s.n.m. dentro del empalme Tingo María hoja 19-k de la Carta Nacional del Instituto Geográfico Nacional – Región Selva.



Figura 1. Mapa del comedor y L.M.G.

3.1.3. Aspectos ambientales

Ecológicamente de acuerdo a la clasificación de zonas de vida o formaciones vegetales del mundo y el diagrama bioclimático de HOLDRIDGE (1987), Tingo María está en la formación vegetal bosque muy húmedo Pre-montano Tropical (bmh-PT), y de acuerdo a las regiones naturales del Perú corresponde a Rupa-Rupa o Selva Alta. Su altitud se encuentra dentro de los 650 y 1,200 m.s.n.m., con precipitaciones que exceden los 3,360 mm. En épocas de invierno. La temperatura media anual es de 22° y 25°C; la máxima

temperatura absoluta es de 33°C y 15°C es la mínima, datos obtenidos por la Estación Meteorológica José Abelardo Quiñones-Tingo María.

3.2. Materiales

Se usaron variedad de materiales como: algodón, agitadores, ansa micológica, cubre objetos, asa de siembra, espátulas, embudo, matraces Erlenmeyer, tubos de ensayo, gradillas para tubos de ensayo, hisopos estériles, mechero de Bunsen, placas Petri, termómetro digital, papel mantequilla, pipetas, pinzas, porta objetos, varillas de vidrio, vaso precipitado, etc.

Así mismo, los medios de cultivo necesarios para la determinación de los microorganismos y su respectivo identificación son: Agar Eosina Azul de Metileno (EMB), Brain Heart Broth (BHI), Agar Cistina-Lactosa Deficiente en Electrolitos (CLED), Agar Mac Conkey, Agar Staphylococcus 110, Agar Cetrimide, Agar Sabouraud glucosa al 4%, Caldo peptona, Agar PlateCount.

3.2.1. Medios de cultivos para pruebas bioquímicas

Los medios de cultivo usados para las muestras bioquímicas son: Agar hierro - triple azúcar (TSI), Caldo peptona 0.1%, Agar lisina hierro (LIA), Caldo rojo de metilo y Voges-Proskauer (RMVP), Agar citrato de Simmons, Agar urea, Caldo Malonato.

3.2.2. Reactivos

Los reactivos empleados fueron: Rojo de metilo, Azul lactofenol-glicerol, Reactivos de Indol según Kovacs, Alfa Naftol, Hidróxido de sodio al 4% (NaOH).

3.2.3. Equipos

Los equipos que se usaron son: Autoclave, Baño maría, Balanza, Cabina de bioseguridad, Contador de colonias, Estufas, Microscopio, Cámara fotográfica digital.

3.3. Métodos

3.3.1. Tipo de investigación

El presente trabajo es de tipo experimental.

3.3.2. Variables dependientes

Entre las variables dependientes tenemos: Grado de contaminación, aire y superficies contaminados del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva

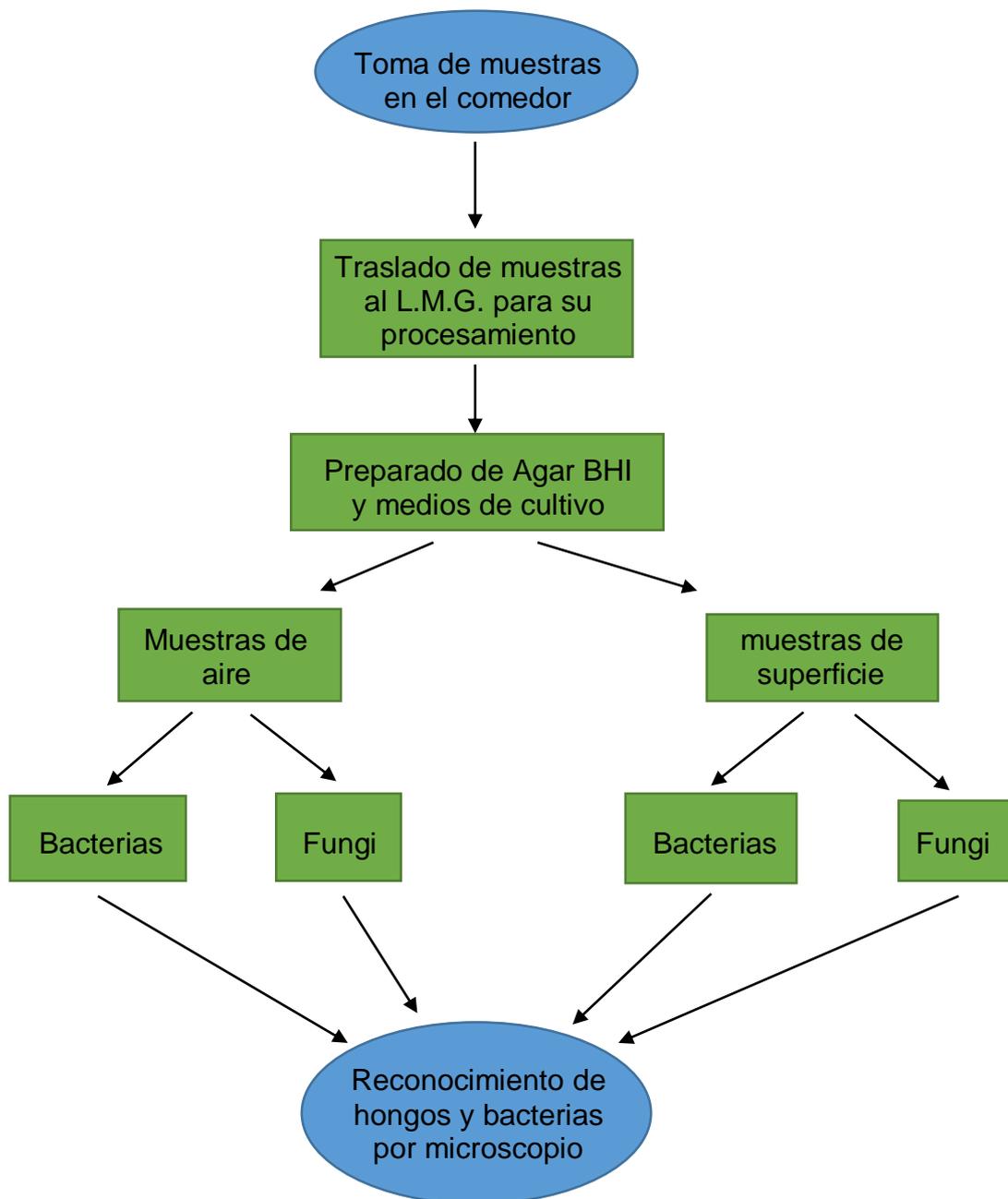
3.3.3. Variables independientes

Tenemos: Concentración de microorganismos (bacterias y fungi) del aire y superficie en la sala y cocina del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

3.3.4. Diseño experimental

3.3.4.1. Unidades experimentales

La unidad en estudio es el grado de contaminación microbiológica en el aire y superficies en 3 puntos de muestreo del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.



Se hizo la repetición 1 y 2 de todo el proceso, para la obtención y posterior procesamiento de los resultados.

Figura 2. Flujograma

3.3.5. Reconocimiento del área de estudio

Se realizaron las visitas respectivas de reconocimiento del área de estudio y así se estableció los puntos de muestreo en el comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.



Figura 3. Plano de las áreas del comedor (elaboración propia).

3.3.6. Muestreos

Se realizó tres 3 repeticiones, la primera repetición se realizó en el mes de Junio del año 2019; La segunda repetición se realizó en el mes de Agosto del año 2019 y la tercera repetición se realizó en el mes de Octubre del año 2019. Para la recolección de datos se escogió 3 puntos de muestreo, los que fueron: Punto 1 (entrada del comedor), Punto 2 (centro del patio del comedor) y Punto 3

(cocina del comedor). Todos los muestreos se realizaron a la 1 pm, durante el funcionamiento de comedor.

3.3.6.1. Toma de muestras de aire

La toma de la muestras de aire se realizó mediante el método volumétrico. Se lleva una caja hermética y dentro de ella nuestros matraces con el caldo BHI, en cada punto de muestreo se realizó 50 aspiraciones de aire. Con una jeringa de 60 mL previamente esterilizada descartable se realizaron aspiraciones. El contenido de la jeringa de cada aspiración se descargó en un matraz con el caldo BHI para bacterias y para fungí en un matraz con BHI más antibiótico (LOPEZ, 2004).

3.3.6.2. Toma de muestras en superficie

Para obtención de las muestras en superficie, se utilizó el método del hisopado. Para este método de la misma forma, se llevó en una caja hermética los matraces con el caldo BHI, luego se tomó una mesa del comedor en cada punto de muestreo, se colocó un perímetro de 25 cm² y con un hisopo se procedió a frotar los cuadrantes más pequeños, de 1 a 2 pasadas. Luego se sumerge el hisopo en el matraz con caldo BHI para bacterias y en caldo BHI mas antibiótico (Ceftriaxona) para fungí (LOPEZ, 2004).

3.3.7. Preparación de BHI para muestreo

Se preparó 6 matraces con Brain Heart Broth (BHI) mediante el siguiente procedimiento: se adicionó 3.7g de Brain Heart Broth (BHI) granulado en 100 mL de agua destilada; se procedió a repartir en envases con medidas para el muestreo de bacterias, para el muestreo de hongos se agregó 1g de antibiótico (Ceftriaxona) para inhibir el desarrollo de bacterias.

3.3.8. Determinación de bacterias del aire

Para el desarrollo de bacterias, en matraces con medio Brain Heart Broth (BHI) se pusieron a incubar a una temperatura de 37°C por un lapso de tiempo de 48 horas, una vez transcurrido este tiempo se retiró un inóculo con un asa de siembra y se sembró por estrías en placas Petri con medios enriquecedores (Agar Manitol Salado, Agar CLED, Agar Mac Conkey, Agar M77, Agar Sabouraud), se llevaron a incubar a una temperatura de 37°C por 24 horas. Luego se pasó a realizar las pruebas bioquímicas, donde se utilizó diferentes pruebas, como: Caldo Malonato Indol, Voges Proskauer, , Rojo de Metilo, Urea, TRI, Citrato de Simmons, LIA, y Sim.

Posteriormente se realizó la coloración diferencial según GRAM. Para luego pasar a observar las muestras obtenidas al microscopio.

3.3.9. Determinación de fungí del aire

Los matraces con el antibiótico (Ceftriaxona), más el caldo BHI y más la muestra se llevó a incubar a temperatura ambiente por un tiempo de 3 a 5 días, una vez transcurrido esos días se retiró un inóculo de cada caldo BHI y se sembró en Agar Sabouraud. Se incubó las placas por 5 días a temperatura ambiente para poder realizar el microcultivo, los cuales se incubaron también durante 5 días para finalmente, poder observar los montajes preparados del microcultivo al microscopio y mediante la guía de BARNETT (1960) lograr determinar los géneros.

3.3.10. Recuento de microorganismos

Para realizar el recuento microbiano se preparó caldo peptona, el cual fue vertido 90 ml por matraz, se utilizaron seis matraces en los que se adicionaron siguiendo el método de dilución 10 ml (10^{-1}) de cada frasco con BHI (después de 48 horas de incubación), se homogenizó y se realizó dos diluciones más, se extrajo 1 mL de la muestra y se adiciono a un tubo de ensayo con 9 mL de Caldo peptona (10^{-2}), se homogenizó y se repitió el procedimiento (10^{-3}), de ésta última dilución, se realizó el método de placa vertida, para el cual se extrajo 1 mL de la última dilución y dicha solución es vertida sobre una placa Petri vacía y esterilizada agregando 10 mL de agar Plate Count, se dejó solidificar por unos 10 minutos y se llevó las placas a la estufa a 37°C por 48 horas. Pasado este tiempo se realizó el conteo de microorganismos con ayuda del contador de colonias manual. La fórmula para el conteo de microorganismos (m.o.) es la siguiente:

$$\text{“m.o./cm}^3 \text{ de aire = Número de colonias} \times \text{Inóculo de siembra} \times \text{Factor de dilución”}$$

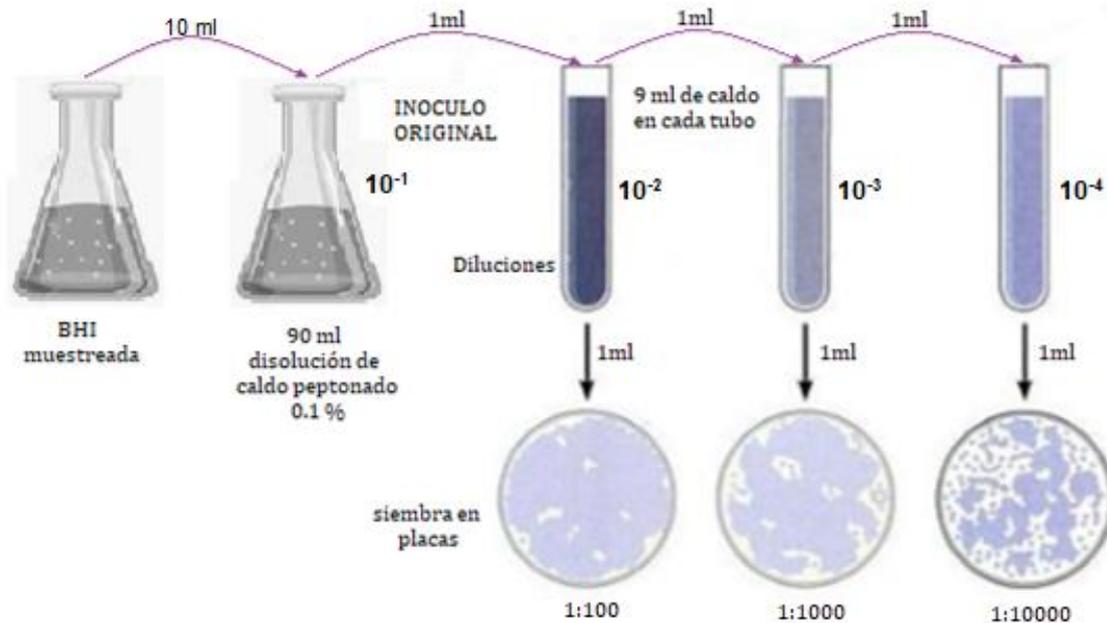


Figura 4. Cálculo del número de microorganismos por el método de diluciones seriadas.

3.3.11. Preparación de medios de enriquecimiento

Se hizo uso de los agares para el aislamiento de bacterias y se preparó de la siguiente manera (LOPEZ, 2004):

- **Agar Manitol Salado:** Se agregó 33.3 gr de agar en agua destilada 300 mL.
- **Agar CLED:** Se diluyó 10.9 gr de agar CLED en 300 mL de agua destilada.
- **Agar Mac Conkey:** En agua destilada 300 mL se agregó 15 gr del agar.
- **Agar M77:** En 300 mL de agua destilada se añadió 1.5 gr de peptona, 0.15 gr de K_2HPO_4 , 0.06 gr de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.06 gr de NaCl, $MnSO_4$ trazas, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ trazas, 4.5 gr de manitol salado, 1.5 gr de extracto de levadura y 7.5 gr de Agar Agar.

Para el desarrollo y aislamiento de hongos se utilizó:

- **Agar glucosa 4% según Sabouraud:** En 300 mL de agua destilada con 19.5 g del agar.

Todos los matraces se mezclaron de manera homogénea para luego ser llevados a baño maría, después se los llevó a autoclave para el proceso de esterilización a 15 Lb de presión por 15 min a una temperatura de 121 °C, se dejó enfriar hasta 45°C para luego proceder a plaquear (LÓPEZ, 2004).

3.3.12. Cultivo en medios enriquecedores

Los matraces que contenían BHI con muestras de aire que se incubaron a 37°C por 48 horas se retiró un inóculo con un asa de siembra, para ser sembrado en las placas Petri. Se sembró con el método de estrías en placas en superficies. Estas placas Petri fueron llevadas a una temperatura de 37°C por 48 horas a incubación.

La siembra de hongos, del caldo BHI más antibiótico se retiró un inóculo y se sembró en agar sabouraud por el método de puntura para los 3 muestreos. Se incubarán las placas por un tiempo de 5 a 8 días a temperatura ambiente.

3.3.13. Pruebas de diferenciación bioquímica

Se utilizó una batería de pruebas químicas, para identificación de bacterias constituida por las siguientes pruebas: caldo Malonato, rojo de metilo, Indol, urea, citrato de Simmons, Voges-Proskauer, LIA, TSI.

Después de haber incubado las placas Petri para el crecimiento de bacterias, se realizó las pruebas para identificar las bacterias en los medios de diferenciación bioquímica, en tubos de capacidad de 5ml:

a. Indol

Se vertió 9 mL aproximadamente de caldo peptona al 0.1% a un tubo de ensayo, se realizó la siembra de bacterias con el ansa de siembra por el método de enjuague. Se incubó por 48 horas, para la determinación del Indol se adiciona el reactivo de Kovacs, de 2 – 3 gotas. Si hay presencia de anillo rojo el Indol será positivo (+), si no hay reacción del Indol será negativo.

b. Rojo de metilo

Se utilizó el caldo rojo de metilo y Voges-proskauer (RMVP), aproximadamente 9 mL en cada tubo de ensayo, se sembró mediante el método de enjuague; se incubó por 48 horas y como reactivo se adiciona el rojo de metilo de 2 -3 gotas. Si hay fermentación de la glucosa el medio vira a rojo.

c. Voges-Proskauer

Se vertió en el tubo de ensayo el caldo RMVP, se sembró mediante el método de enjuague y se incubó por 48 horas; como reactivo, se utilizó hidróxido de sodio (NaOH) al 4% de 2 - 3 gotas y se adicionó el reactivo de alfa naftol de 2 – 3 gotas. Si el medio vira a color rosado opaco se dice que es VP+.

d. TSI

Se vertió el agar a 45°C hasta la tercera parte de los tubos de ensayo, se dejó enfriar en pico de flauta, luego se sembró en puntura y estrías,

se incubó a 37°C por 48 horas; el tipo de reacción positivo o negativo se conoce por el cambio de color y degradación de los azúcares.

e. LIA

Se vertió el agar a los tubos de ensayo a una temperatura de 45 °C y se dejó enfriar en pico de flauta, para proceder a sembrar la colonia de bacteria seleccionada mediante el método de puntura y estrías; la reacción se muestra mediante el cambio de color.

f. Citrato de Simmons

Se vertió el agar en los tubos de ensayo y se dejó enfriar en modo inclinado para luego sembrar por el método de estrías. Pasada las 48 horas de incubación, el cambio a color azul indica reacción positiva y aumento de pH.

g. Caldo Malonato

Se vertió el caldo en los tubos de ensayo y se realizó la siembra por el método de enjuague, después de incubar por 48 horas se observó si hubo o no reacción, es positivo si cambia a color azul, esto ocurre por el consumo de Malonato de sodio.

h. Urea

Se distribuyó el agar en tubos de ensayo, se sembró las colonias de bacterias por el método de puntura, al cabo de las 48 horas el cambio de color nos mostró si hubo reacción positiva.

Para las pruebas de citrato TSI, LIA, Urea, se observó un viraje de color de cada prueba, con la ayuda de una tabla de pruebas bioquímicas se observó la especie o género de cada microorganismo.

- **TSI:** Degradación de los tres azúcares (Lactosa, Glucosa y Sacarosa).
K: Alcalino
A: Acido
K/A: La bacteria ha degradado sacarosa y glucosa.
A/A: La bacteria ha consumido los tres azúcares + H₂S + gas.
A/K: Bacterias anaerobias.
R/K: No hay reacción.
- **Prueba de LIA (Lisina descarboxilasa):** se observó la desanimación
descarboxilación.
K: Alcalino
A: Acido
K/K: No reacción
K/A: Diseminación de lisina
A/K: Diseminación de lisina.
A/A: Diseminación de lisina + H₂S + gas

3.3.14. Coloración de bacterias

Se tomó una pequeña muestra de la cepa y se puso en el portaobjetos por medio de frotis. Posteriormente se fijó la muestra al portaobjeto haciendo uso de un mechero, pasando el portaobjeto por encima de la flama (para que se seque) y enfriando inmediatamente el portaobjeto para no quemar la muestra (LOPEZ, 2004).

- Se colocó el portaobjeto sobre un soporte que consta de 2 varillas, luego se agregó de 1 a 2 gotas de cristal violeta al portaobjeto, se esperó de 1.5 a 2 minutos y se enjuago a chorro.

- Acto seguido, se agregó de 1 a 2 gotas de Lugol a la muestra que se encuentra en el portaobjeto por un tiempo de 1.5 a 2 minutos, luego se enjuaga a chorro.
- Luego se añadió Alcohol acetona y por 5 segundos se realizó movimientos de vaivén, después de este tiempo se enjuaga a chorro.
- Inmediatamente después se agregó de 1 a 2 gotas de Safranina, por un tiempo de 30 segundos, se lavó a chorro y se dejó secar.
- Una vez seco, se agregó de 1 a 2 gotas de aceite de inmersión y se procede a observar en el microscopio con un objetivo de 100X.

3.3.15. Microcultivo fúngico

Se esterilizó las placas Petri conteniendo: un soporte de vidrio en forma de herradura, un porta y un cubre objeto.

Se preparó una placa Petri con medio agar de Sabouraud glucosa 4%, dividido en cubitos de aproximadamente 20 × 20 × 10 mm. Cada cubito se colocó sobre el porta objeto dentro de la placa de microcultivo y sobre la varilla de vidrio.

De los cultivos aislados de fungi se eligió diferentes tipos de colonias por cada placa de microcultivo. Una vez elegida la colonia de fungi, con la ayuda de un ansa micológica, se tomó un inóculo de la misma y se trasladó sobre el cubito de medio de sabouraud que se colocó sobre el porta objeto dentro de la placa de microcultivo. Se colocó el cubre sobre el cubito de agar, luego se puso dentro de la placa un algodón húmedo para asegurar la humedad y el crecimiento del hongo. La placa de microcultivo se llevó a incubación a temperatura ambiente por un tiempo de 5 – 7 días.

Al término de la incubación, se retiró suavemente con ayuda de una pinza el cubre objeto de la placa de microcultivo y se colocó sobre un porta objeto limpio y desengrasado al que ha colocado previamente 1 – 2 gotas de azul de lacto glicerol. Con la ayuda de papel secante, se absorbió el exceso de colorante. Se selló los lados laterales con esmalte de uñas transparente.

Se eliminó el cubito de medio sabouraud llevándolo a un recipiente conteniendo lejía diluida al 10 %, se retiró el porta de la placa de microcultivo y se agregó de 1 – 2 gotas de azul lacto glicerol. Se añadió un cubreobjetos limpio y desengrasado. Con papel secante, se absorbió el exceso de colorante. Se selló los lados laterales con esmalte de uñas transparente.

Las muestras obtenidas, se observan al microscopio utilizando un lente ocular de 10x y un lente objetivo de 40x, así el aumento total será de $10 \times 40 = 400$ aumentos.

3.3.16. Reconocimiento de riesgos potenciales para la salud

Se utilizó la información de la Organización Panamericana de la Salud (OPS, 2009). Del cual se pudo conocer y recopilar los datos necesarios de las bacterias y fungi encontrados en los análisis del presente trabajo de investigación.

IV. RESULTADOS

4.1. Bacterias y fungi del aire interno y en diferentes superficies del comedor.

4.1.1. Microorganismos a partir del aire

En el cuadro 1 se aprecia el número de microorganismos (UFC/cm³) encontrados en el aire de los 3 puntos de muestreo dentro del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, siendo el promedio mayor en el punto 1 (entrada del comedor) con 338x 10³ UFC/cm³ de aire.

Cuadro 1. Número de microorganismos UFC/cm³ de aire en los puntos de muestreo del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Zona de muestreo	1°	2°	3°	Promedio por zona	Promedio total
	Muestreo (UFC/cm ³ de aire)	Muestreo (UFC/cm ³ de aire)	Muestreo (UFC/cm ³ de aire)		
Entrada de comedor	381x 10 ³	193x 10 ³	242x 10 ³	272x 10 ³	
patio del comedor	185x 10 ³	66x 10 ³	173x 10 ³	141x 10 ³	140x 10 ³
Cocina de comedor	-	18x 10 ³	25x 10 ³	14x 10 ³	
Promedio por muestreo	189x 10 ³	92x 10 ³	146x 10 ³	142x 10 ³	

En la figura 5 se observa la unidad porcentual de número UFC/cm³ de aire en los puntos de recolección de muestras. El mayor porcentaje de UFC bacteria/cm³ de aire se registró en la entrada del comedor con un 63% (272×10^3 UFC/cm³) y el valor mínimo se registró en la cocina del comedor con 4% (16×10^3 UFC/cm³).

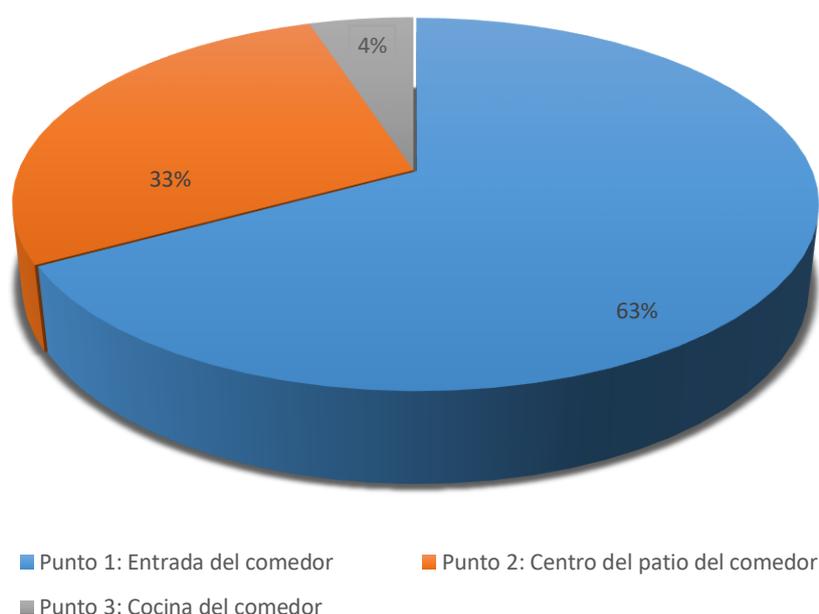


Figura 5. Cantidad porcentual de organismos en el aire.

4.1.2. Microorganismos a partir de superficies

El cuadro 2 se muestra el valor máximo de UFC/cm² promedio de microorganismos es de 147×10^2 UFC/cm² en el punto 1 (entrada del comedor), y el menor valor de UFC/cm² promedio de microorganismos es de 59×10^2 UFC/cm² en el comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Cuadro 2. Número de microorganismos UFC/cm² de superficie en los puntos de muestreo del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Zona de muestreo	1er muestreo (UFC/cm ²)	2do muestreo (UFC/cm ²)	3er muestreo (UFC/cm ²)	Promedio por zona	Promedio total
Entrada del comedor	161x 10 ²	128x 10 ²	152x 10 ²	147x 10 ²	
Centro del patio del comedor	158x 10 ²	106x 10 ²	92x 10 ²	119x 10 ²	108x 10 ²
Cocina del comedor	76x 10 ²	39x 10 ²	63x 10 ²	59x 10 ²	
Promedio por muestreo	131x 10 ²	91x 10 ²	102x 10 ²	108x 10 ²	

En la figura 5 se observa la cantidad porcentual de número de unidades formadoras de colonias por centímetro cuadrado de superficie de los puntos de muestreo. El mayor porcentaje de UFC de bacterias/cm² se registró en el punto 1 (entrada al comedor) con 45% (147x 10² UFC/cm²) y el valor mínimo se registró en el punto 3 (cocina del comedor) con 18% (59x 10² UFC/cm²).

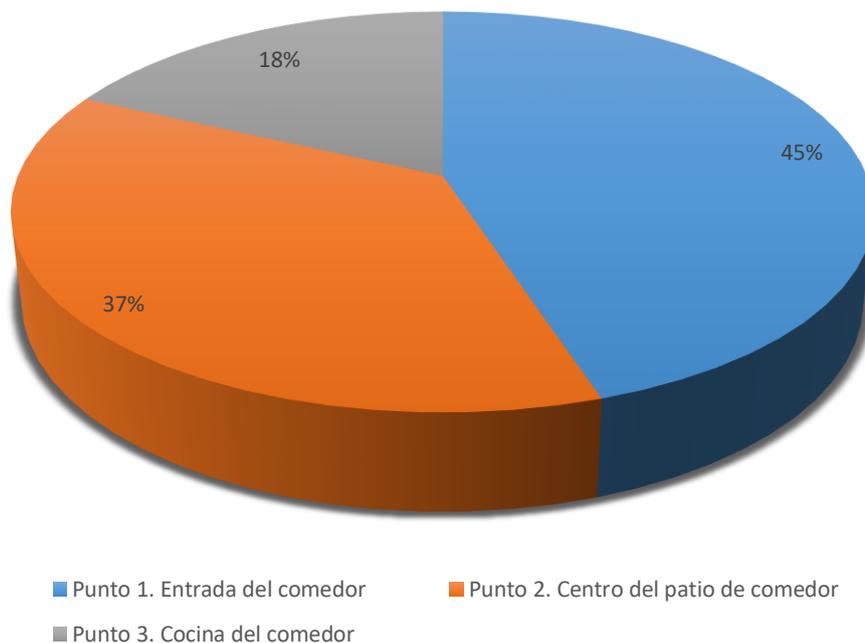


Figura 6. Cantidad porcentual de organismos en superficies.

4.2. Identificación de bacterias

4.2.1. Bacterias encontradas a partir del aire

En el cuadro 3 se observa los valores de las especies de bacterias en el aire de los puntos de muestreo del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva. El valor máximo de especies de bacterias en el aire se registró en el punto 1 (entrada del comedor) con una sumatoria de 5 y el valor mínimo se registró en el punto 3 (cocina del comedor) con una sumatoria de 1 especie bacteriana.

Cuadro 3. Cuadro resumen, bacterias presentes en el aire por punto de muestreo del comedor UNAS.

Punto de muestreo	Especies identificadas	Total
Punto 1 (entrada del comedor)	<i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Klebsella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter hafnia</i> , <i>Proteus morganii</i> , <i>Serratia marcescens</i>	5
Punto 2 (Centro del patio del comedor)	<i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Klebsella pneumoniae</i> , <i>Proteus morganii</i>	3
Punto 3 (Cocina del comedor)	<i>Enterobacter agglomerans</i>	1

4.2.2. Bacterias encontradas a partir de superficies

En el cuadro 4 vemos las especies de bacterias encontradas en las superficies de los puntos de muestreo del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva y sus respectivos valores. El número máximo de especies de bacterias en las superficies se registró en el punto 2 con una sumatoria de 5 y el valor mínimo se registró en el punto 3 (cocina del comedor) con una sumatoria de 1 especie bacteriana.

Cuadro 4. Cuadro resumen, bacterias presentes en la superficie por punto de muestreo del comedor UNAS.

Punto de muestreo	Especies identificadas	Total
Punto 1 (1era mesa de la entrada del comedor)	<i>Proteus morgani</i> , <i>Enterobacter sp.</i>	2
Punto 2 (mesa del centro del comedor)	<i>Lactobacillus sp.</i> , <i>Staphylococcus sp.</i> , <i>Enterobacter sp.</i> , <i>Klebsella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter hafnia</i>	5
Punto 3 (mesa de cocina del comedor)	<i>Enterobacter agglomerans</i>	1

4.3. Identificación de fungi

4.3.1. A partir del aire

En el cuadro 5 Se observa los valores de los géneros de fungi presentes en el ambiente de los puntos de muestreo del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva. El valor máximo de géneros fungi del aire se registró en el punto 2 (centro del comedor UNAS) con una sumatoria de 3 y el valor mínimo se registró en el punto 3 (cocina del comedor UNAS) con una sumatoria de 1 géneros de fungi.

Cuadro 5. Géneros de Fungí presentes en el aire por zona de muestreo del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Puntos de muestreo	Géneros identificados	Total
Punto 1. Entrada al comedor	<i>Geotrichum sp.</i> , <i>Aspergillus sp.</i>	2
Punto 2. Centro del patio del comedor	<i>Geotrichum sp.</i> , <i>Fusarium sp.</i> , <i>Aspergillus sp.</i>	3
Punto 3. Cocina del comedor	<i>Geotrichum sp.</i>	1

4.3.2. A partir de la superficie

En el cuadro 6 Se observa los valores de los géneros de fungi presentes en la superficie de los puntos de muestreo del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva. El valor máximo de géneros fungi del aire se registró en el punto 2 (centro del comedor UNAS) con una sumatoria de 3 y el valor mínimo se registró en el punto 1 (cocina del comedor UNAS) con una sumatoria de 1 géneros de fungi.

Cuadro 6. Géneros de Fungí presentes en la superficie por zona de muestreo en el comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Puntos de muestreo	Géneros identificados	Total
Punto 1. Entrada al comedor	<i>Geotrichum sp.</i>	1
Punto 2. Centro del patio del comedor	<i>Geotrichum sp.</i> , <i>Fusarium sp.</i> , <i>Arpergillus sp.</i>	3
Punto 3. Cocina del comedor	<i>Geotrichum sp.</i> , <i>Fusarium sp.</i>	2

4.4. Riesgos potenciales a la salud por la presencia de microorganismos en el aire y superficie

En el cuadro 7 Y 8 se enumera los principales riesgos potenciales de la presencia de microorganismos (bacterias y fungi) en el aire que pueden contaminar el ambiente del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Cuadro 7. Riesgos potenciales y tratamiento para bacterias encontrada.

Bacteria encontrada	Lugar	Riesgos que ocasiona	Tratamiento
<i>Enterobacter agglomerans</i>	Aire	Infección del tracto urinario y tracto respiratorio	Almacenamiento al 5°C o menos, evitar exponer a intemperie los alimentos, fumigaciones periódicas
<i>Enterobacter hafniae</i>	Aire y Superficie	Infección del tracto urinario y de tracto respiratorio	Almacenamiento a 5°C o menos, evitar exponer a intemperie los alimentos, fumigaciones periódicas.
<i>Enterobacter sp</i>	Aire y Superficie	Infección del tracto urinario y del tracto respiratorio, gastroenteritis aguda, peritonitis cuando existen infecciones intraabdominales, neumonía nosocomial.	

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Aire y Superficie	Neumonía, infecciones del tracto urinario (ITU), la espondilitis anquilosante, septicemia e infecciones suaves del cuerpo en los seres humanos. Casi siempre, una infección de <i>Klebsiella pneumoniae</i> es muy común en pacientes con enfermedades como la diabetes, enfermedades pulmonares crónicas, los alcohólicos crónicos, etc. De hecho, es la segunda más patógeno virulento, al lado de <i>E. coli</i> , que causa infección del tracto urinario.	
<i>Lactobacillus sp</i>	Superficie	Existe una enorme diversidad de especies de lactobacilos. Estas son "bacterias amistosas" que viven normalmente en nuestros sistemas digestivo, urinario y genital sin causar enfermedades. El lactobacilo también se encuentra en alimentos como el yogur y en suplementos dietéticos.	
<i>Serratia marcescens</i>	Aire	Conjuntivitis, queratitis e infecciones en heridas, riñones y vías urinarias, así como infecciones respiratorias, meningitis y endocarditis. Esta bacteria afecta especialmente a pacientes hospitalizados y a pacientes que tienen la inmunidad disminuida por enfermedades sistémicas o tratamientos médicos inmunosupresores, infección cutánea.	Para prevenir las infecciones de <i>Serratia</i> , se requiere ropa protectora y lavado de manos y la esterilización apropiada de instrumentos. Mantener un ambiente limpio en el baño es también importante.

<i>Staphylococcus sp</i>	Superficie	Microorganismos que están presentes en la mucosa y en la piel de los humanos y de otros mamíferos y aves, incluyendo un total de 51 especies, de las cuales 17 se pueden aislar del ser humanos.	Los antibióticos que se recetan habitualmente comprenden ciertas cefalosporinas, nafcilina o antibióticos relacionados, como sulfamidas o vancomicina.
<i>Proteus morganii</i>	Aire y Superficie	Infecciones urinarias, enteritis (especialmente en niños), abscesos hepáticos, meningitis, otitis media y neumonía con o sin empiema, entre otros.	Es generalmente susceptible a muchos antibióticos como tetraciclinas.

Cuadro 8. Riesgos potenciales y tratamiento para fungi encontrados.

Fungi encontrado	Lugar	Riesgos que ocasiona	Tratamiento
<i>Aspergillus sp.</i>	Aire y superficie	Hipersensibilidad, Mitocoxicosis, micosis sistémica, infección micosis (otomicosis, Onicomicosis, queratitis) y el aspergiloma. Efectos alérgicos (asma), efectos tóxicos, efectos cancerígenos por vía digestiva (cáncer de hígado).	Desinfección (Fenólicos, yodóforos, glutaraldehido 2% y formaldehido, Hipoclorito sódico y sulfato de cobre), Antimicóticos (Itraconazol, anfotericina B, voriconazol y posaconazol). Disponer de ventilación adecuada en los lugares de trabajo, evitar la humedad relativa alta y las condensaciones, implantar un programa periódico de limpieza y mantenimiento de locales e instalaciones.
<i>Fusarium sp.</i>	Aire y superficie	Mitocoxicosis, infecciones sistémicas en pacientes inmunocomprometidos con una alta mortalidad, peritonitis y diálisis peritoneal crónica ambulante, Onicomicosis.	Almacenar los productos de origen vegetal o animal: alimentos, residuos orgánicos, paja, madera, cereales, etc.
<i>Geotrichum sp.</i>	Aire y superficie	Geotricosis pulmonar, Geotricosis bronquial, Geotricosis bucal, Geotricosis vaginal, Geotricosis gastrointestinal.	

V. DISCUSIÓN

Las concentraciones de microorganismos en la atmosfera, hasta una altura de 3000 metros (Troposfera), oscilan entre 10^1 y 10^4 por metro cubico de aire (BOVALLIUS *et al.*, 1987). Podemos confirmar esto en el cuadro 1, donde vemos una variación de datos UFC/cm³, el valor máximo de concentración encontrado es de 242×10^3 UFC/cm³ y un mínimo valor de 0×10^3 UFC/cm³, esto se registró en la entrada del comedor y en la cocina del comedor respectivamente. Cabe mencionar que la zona de la cocina es el punto de muestreo donde se registró los menores valores.

Según LOPARDO *et al.*, (2018), El género *Enterobacter* se encuentra como comensal en el medio ambiente en fórmulas alimentarias, en la piel y en el tracto intestinal de humanos y animales. Esto se confirma en el cuadro 3 y 4, por lo que este género (*Enterobacter*) es el que se encontró con mayor presencia en los puntos de muestreo y esto se puede deber a la presencia de humedad.

Según BOVALLIUS *et al.* (1978), los hongos son característicamente numerosos en verano, en tanto hay mayor cantidad de bacterias en otoño como en primavera, puesto que la humedad relativa del aire, la exposición de luz solar y temperatura influyen en ella. Es así que se confirma los resultados del cuadro 3 y 4, donde se demuestra que hay mayor cantidad de bacterias (8) que de fungí (3), por haber tomado las muestras en un intervalo de tiempo, alrededor del mes de septiembre, mes en el cual se encuentra la estación de la primavera según el hemisferio en el que nos encontramos (véase cuadro 20).

Según GONZALES (2013), Método IMVIC, es una prueba utilizada en microbiología para la identificación de bacterias, se compone de cuatro (4) pruebas: Indol (I), Rojo de Metilo (RM), Voges Proskauer (VP) y Citrato Simons (SC). Mediante el resultado obtenido se afirma que el uso del método de IMVIC (ver cuadro 21) facilito el hallazgo de bacterias, tales como: *Proteus morganii*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter hafniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*.

Según la OMS (2005), la lista de las bacterias patógenas para la salud humana más peligrosas del mundo e invulnerables a los antibióticos, en la que se incluyen a 12 familias de bacterias más peligrosas para la salud humana de la OMS, se divide en tres categorías: Prioridad crítica, alta y media (OMS, 2005). Esto se confirma y se coloca a la calidad microbiológica del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva en el nivel alto, ya que la mayoría de las bacterias encontradas en el comedor no figuran en el nivel crítico, alto o medio, a excepción de *Klebsiella* y *Proteus* en el nivel crítico y del *Staphylococcus* en el nivel alto.

Los microorganismos pueden dejar la atmósfera de distintas maneras, los microorganismos pueden sedimentar ocasionado por la gravedad, como también pueden ser lavados por lluvias u otro tipo de precipitación. BRICEÑO (2016), confirma esto al encontrar los mismos microorganismos tanto en aire como en alimentos. De lo antes mencionado, entonces esto reconfirmamos en los cuadros 3 y 4, se encontró *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter hafniae*, *Proteus morganii* y *Klebsiella pneumoniae* tanto en el aire como en superficie (GREGORY, 1973).

Según ATLAS y BARTHA, (2002), casi todos los microorganismos no son capaces de soportar largos desplazamientos a través de la atmósfera (solo unos pocos milímetros), pero un número muy escaso de microorganismos logran resistir el transporte de distancias largas puesto que estos pierden viabilidad por culpa de la desecación, esto especialmente ocurre durante el día y en capas bajas, esto se confirma en los cuadros 3 y 5, en los cuales se

muestran la presencia de *Enterobacter agglomerans* (bacteria) y *Geotrichum sp.* (Fungi), en el aire de los 3 puntos de muestreo a las 13 horas.

La duración de los microorganismos en el medio ambiente va a variar de acuerdo al tamaño del microorganismo, forma y peso también influyen, esto se confirma en los cuadros 4 y 6, donde vemos un buen número de bacterias y fungi sobre una superficie (DE LA ROSA *et al.*, 2002).

Según GONZALES (2013), para evaluar el grado de contaminación del aire por fungi, su concentración debe ser menor de 500 UFC/m³ para que el ambiente sea aceptable, esto se puede afirmar en el cuadro 1 y 2, fungi en el aire y fungi en superficies respectivamente, podemos decir que el grado de contaminación del comedor se puede considerar como MODERADO por tener valores mucho menor a los 500 UFC/m³.

VI. CONCLUSIONES

Se registraron cuatro (4) géneros bacterianos en horario de almuerzo (1:00 pm): *Enterobacter*, *Serratia*, *Klebsiella* y *Proteus*.

El mayor número de microorganismos aerobios se obtuvo en la entrada del comedor, y el mayor número de microorganismos en la superficie se halló en el Centro del patio del comedor.

Las bacterianas encontradas en el interior del comedor fueron: *Enterobacter agglomerans*, *Klebsella pneumoniae*, *Enterobacter hafnia*, *Proteus morganii*, *Serratia marcescens*. Y en las superficies se detectaron: *Lactobacillus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Enterobacter sp.*, *Klebsella pneumoniae*, *Enterobacter hafnia*, *Proteus morganii*.

Los fungi encontrados en el aire fueron: *Geotrichum sp.*, *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.* Y en las superficies se encontraron los mismos géneros de fungi.

La presencia de microorganismos patógenos en el aire interno y superficies del comedor indica una moderada calidad microbiana.

VII. RECOMENDACIONES

Recomendar el ingreso de los estudiantes al comedor de manera adecuada y limpia, ya que en muchos casos estos vienen de trabajos de campo donde se encuentran con diferentes niveles de salubridad.

Elaborar, implementar e inducir un protocolo de limpieza y desinfección del aire y superficies del interior del comedor de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, para garantizar a los usuarios un ambiente limpio, con la menor carga de contaminantes donde se minimicen los riesgos de transmisión de enfermedades.

Realizar periódicamente muestreos del aire y en superficies del comedor para así poder contar con un mayor número de datos que nos dé a conocer el comportamiento de los microorganismos y poder asegurar la salud de los estudiantes y de los trabajadores administrativos.

ABSTRACT

Through a microbiological analysis of the dining hall, the bacteria and fungi in the internal air and on the dining hall surfaces could be isolated. It was determined that the air and the surfaces within the dining hall at the Universidad Nacional Agraria de la Selva present microorganisms (bacteria and fungi). The analyses were for two (2) environmental components: air and surface, at three sampling points: P1 dining hall entrance, P2 center of the dining hall patio, P3 dining hall kitchen. The three samples were taken during the months of June, August and October, respectively, with 1:00 pm being the time that was chosen for the sampling. The contamination of the air from microorganisms was determined and identified in the dining hall, they were: *Enterobacter agglomerans*, *Staphylococcus sp*, where the *Staphylococcus sp* bacteria resulted as the most pathogenic. Through biochemical tests, five bacteria species were found in the air and seven bacteria species on the surfaces. Using the microculture test three species of fungi were found in the air and three species of fungi on the surfaces. Altogether, eight bacterial species were found within the dining hall, which were: *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter hafnia*, *Enterobacter sp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus morgani*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus sp*, *Lactobacillus sp* and three fungal species, which were: *Geotrichum sp*, *Aspergillus sp* and *Fusarium sp*. The potential health risks, due to the presence of the microorganisms (bacteria and fungi) found at the different points within the dining hall, were detected during the development of the present thesis work. The resulting quality is moderate.

VIII. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

- AIRA, M.; JATO, V.; IGLESIAS, I. Y COL 2005. Calidad del aire: polen y esporas en la comunidad Gallega. Ed. Grafisant S.L. 237 Pg.
- ARENAS, R., 2003. Micología Médica ilustrada. 2ed. México: McGraw Hill Interamericana.
- ATLAS, R., y BARTHA, R. 2002: Ecología microbiana y Microbiología ambiental. Ed. Pearson Educación, Madrid.
- AULICIEMS, A. 1981. Psycho-physiological criteria for global zones of building design. *Biometeorology* 8: 283. Proc. IX Int. Congr. Biometeorology. Swets and Zeitlinger B.V. Lisse.
- BARTRAM, J. 2003. Heterotrophic plate counts and drinking-water safety: the significance of HPCs for water quality and human health. Serie de la OMS emerging Issues in Water and Infectious Disease. Londres (Reino Unido), IWA Publishing.
- BARNETT, H. 1960. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. West Virginia University. 2da Edición. Burgess Publishing Company. Virginia. EE.UU.
- BOVALLIUS, A., BUTCH, B., ROFFERY, R., ANAS, P. 1978. Three-year investigation of the natural airborne bacterial flora at four locations in Sweden». *Applied and Environmental Microbiology*. 35:847-852.

- BRICEÑO, E. 2016. Tesis "CONTAMINACION AEROMICROBIOLOGICA EN ALIMENTOS DE EXPENDIO DIRECTO EN PUESTOS DE COMIDA AL PASO DE LA CIUDAD DE TINGO MARIA", Pg. 102 – 227.
- CEPIS, 1987. Parámetros físico-químicos que influyen en la calidad y en el tratamiento del agua. Lima,
- CRUZ, J. 1989. Enfermedades diarreicas agudas y persistentes y sus consecuencias nutricionales en infantes en Guatemala. Arch Latino Am Nutr.
- DE LA ROSA, M., MOSSO. M., ULLÁN, C. 2002. El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. Observatorio Medioambiental. 5:375-402.
- FERNANDEZ, S. 2012. Estudio comparativo en altura y distancia en el muestreo aerobiológico. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura Badajoz. 245p.
- FU, E., McCue K., y Boesenberg, D. 2007. Chemical Disinfection of Hard Surfaces-Household, Industrial and Institutional Setting. En: Johansson, I. y Somasundaran P. (Eds.), Handbook for Cleaning contamination of surfaces, Pg. 573-592.
- GONZALES, P. 2013. El problema de la toma de muestras en aire. Aparecido en Gestión Ambiental 2002. Madrid. Vol. 4 (40). 7-14p.
- GREGORY, P. H. 1973. The microbiology of the atmosphere. Edit John Willey and Sons. New York.

- HERRERA, K. 2009. Impacto de la calidad microbiológica del aire externo en el ambiente interno en la salud del personal de cuatro laboratorios de instituciones públicas en la Ciudad de Guatemala y Bárcenas Villa Nueva. 564p.
- HOLDRIDGE, L. 1987. Ecología basada en zonas de vida. Ed. Agro américa. 216 Pg.
- JAWETZ, M. 2010. Microbiología Médica. Traductor: Dra. Ilean Naget Arsof Saab. Editorial Manual Moderno. México. 833 p. [En línea]: Redlagrey, (<http://redlagrey.com/files/MicrobiologiaMedicaJawetz25www.rinconmedico.smffy.com.pdf>, libro. 05 May. 2018).
- KONEMAN, E., ALLEN, S. 2008. Diagnóstico microbiológico. Ed. Médica Panamericana. 1691p.
- LIDWELL, O. M. 1990. The microbiology of air». En: Linton, A. and Dick, H. M. (ed). Topley and Wilson's. Principles de bacteriologu, virology and inmunity, I. 8°Edic. Edit. Edward Arnold. London.
- LLOP, H., VALÉS-DAPENA, V., ZUAZO, S. 2002. Microbiología parasitología médica. Tomo I. Centro Nacional de Información de ciencias médicas, Ciudad de la Habana.531 p.
- LÓPEZ, C. 2004. Protocolos de prácticas de Microbiología Ambiental. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María. 85 p.

- LOPARDO, *et al.*, 2018. Bacterias de Importancia Clínica. Ed. por H. A. Argentina. 429 p. [En línea]: A am, ([http:// www.aam.org.ar/descarga-archivos/Parte21Enterobacterias.pdf](http://www.aam.org.ar/descarga-archivos/Parte21Enterobacterias.pdf), manual
- MANDELL, G., BENNETT, J., DOLIN, R. 2006. Enfermedades infecciosas Elsevier, España.
- MIQUEL, P., y CAMBERT, R. 1901: *Traité de bacteriologie pure et appliqué*. Ed. Masson et Cia, Paris.
- MISHALSKI, S. 1985. Un modelo de la regulación de la humedad relativa. Instituto de Conservación, Ottawa. Museum 5. p130.
- MOHR, A. J. 1997. Fate and transport of microorganisms in air». En: Hurst, C. J. *et al* (ed). *Manual of enviromental Microbiology*. Ed. American Society for Microbiology. Washington.
- MONTAÑO, N., SANDOVAL, A., CAMARGO, S., SÁNCHEZ, J. 2010. Los microorganismos: pequeños gigantes. 77: 15-23. [En línea]: (<http://www.elementos.buap.mx/num77/pdf/15.pdf>, revista, 07 May. 2018)
- MORALES, J.; CANDAU. P.; y GONZALES, F. 2004. Relación entre la concentración de algunas esporas fúngicas en el aire de Sevilla y los índices bioclimáticos. Dpto. de Biología vegetal y Ecología Universidad de Sevilla (en línea). España. Disponible en AECLIM (www.aeclim.org). Consultado en Noviembre. 2009.
- NILSSON, S. 1992. Aerobiology: An interdisciplinary and limitless science. *Ind. J. Aerobiol. Special Volume*: 23-27.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). 2005. Manual de bioseguridad en el laboratorio [Internet]. 3ra.ed. Ginebra: OMS; 2005 [citado 30 mayo 2013]. Disponible en: http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/CDS_CSR_LYO_2004_11SP.pdf

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD (OPS). 2009. Peligros biológicos para la salud. INPPAZ-OPS/OMS. [En línea]. Peligros biológicos. https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838:2015-peligros-biologicos&Itemid=41432&lang=es, Consultado en Enero. 11. 2020.

PASCUAL, M., CALDERON, V., 2000. Microbiología alimentaria: Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas. Ed. Díaz de Santos. 441p.

PASTEUR, L. (1862): «Memoire sur les corpuscles organisés qui existent dans l'atmosphère». En: Radot PV (ed) 1922 Ouvres de Pasteur. Vol. 2. Ed. Masson, Paris.

PASTOR, P. 2010. Microbiología del aire. Editorial Velásquez. Madrid, España.

PELCAZAR, R. 1993. Microbiología. Cuarta Edición. Editorial Mc Graw – Hill. México. Pg. 8 – 36.

POTTS, M. 1994. Desiccation tolerance of prokaryotes. Microbiological Reviews. Páginas 58:755-805.

RAMO TRAVER, Z. 1995: Organización de los colegios de primaria y de las escuelas infantiles. Madrid: Escuela Española.

- ROJAS M. A., 2010. Pruebas bioquímicas. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de estudios superiores Zaragoza. Laboratorio de microbiología. México. 1802p.
- ROMERO, R. 2007. Microbiología y parasitología humana. Ed. Médica Panamericana. México. 1802p.
- SERVICIO NACIONAL DE METEOROLOGIA E HIDROGRAFIA DEL PERÚ (SENAMHI) 2008. La temperatura. Capítulo 3. [En Línea]: (www.senamhi.gob.pe/pdf/manuelmeteo/cap3.pdf,2008)
- SORIANO, J. 2007. Micotoxinas en alimentos. Ediciones Díaz de Santos. 396p.
- STETZENBACH, L. 1997: «Introduction to aerobiology». En: Hurst, C.J. et al. (ed). Manual of environmental microbiology. Ed. American Society for Microbiology, Washington.
- UNDERWOOD, E. 1992. Ecology of microorganisms as it affects the pharmaceutical industry». En: Hugo, W. B. and Rusell, A. D. (ed). Pharmaceutical microbiology. 5ª Edic. Edit. Black well Scientific Publication. London.
- VAQUERO DE LA HOZ, 2011. Calidad del aire interior (IAQ) en las edificaciones hospitalarias. Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid, Escuela de Ingenierías Industriales. Valladolid. 688 p.
- WAGGONER, P. E. 1983: «The aerial dispersal of the pathogens of plant disease». En: Brooksby, J. B. (ed). The aerial transmission of disease. Ed. The Royal Society, London.

WEATHERILL, S. 2008. Report of the independent investigator into the 2008 Listeriosis Outbreak. Canada.

IX. ANEXOS

ANEXO A. Resultados análisis en laboratorio, tablas y lista de chequeos.

Cuadro 9. Bacterias identificadas en pruebas bioquímicas de la primera repetición.

Pruebas bioquímicas	Zona de muestreo / Medio					
	P1/A	P2/A	P3/A	P1/S	P2/S	P3/S
INDOL	-	-	-	-	-	-
SIM	-	-	-	-	-	-
RM	-	+	+	+	+	-
VP	+	-	-	-	-	+
CITRATO	+	+	-	-	+	-
TSI	+	+	+	-	+	+
LIA	-	-	-	-	+	-
MALONATO	+	+	+	+	+	-
UREA	+	+	+	+	+	+
Nombre de la Bacteria	<i>K.</i> <i>pneum.</i>	<i>E.</i> <i>agglom.</i>	<i>E.</i> <i>agglom.</i>	<i>E.</i> <i>agglom.</i>	<i>K.</i> <i>pneum.</i>	<i>E.</i> <i>agglom.</i>

- *K. pneum.* = *Klebsiella pneumoniae*
- *E. agglom.* = *Enterobacter agglomerans*

Cuadro 10. Bacterias identificadas en pruebas bioquímicas de la segunda repetición.

Pruebas bioquímicas	Zona de muestreo / Medio					
	P1/A	P2/A	P3/A	P1/S	P2/S	P3/S
INDOL	+	+	-	-	+	+
SIM	+	+	-	-	+	-
RM	-	-	+	+	-	+
VP	-	+	-	-	+	-
CITRATO	-	-	+	+	-	-
TSI	+	+	+	+	+	+
LIA	-	-	-	-	+	-
MALONATO	-	+	+	+	+	+
UREA	+	-	+	+	-	+
Nombre de la Bacteria	<i>P.</i> <i>morganii</i>	<i>P.</i> <i>morganii</i>	<i>E.</i> <i>agglom.</i>	<i>E.</i> <i>agglom.</i>	<i>E.</i> <i>hafniae</i>	<i>E.</i> <i>agglom.</i>

- *P. morganii* = *Proteus morganii*
- *E. agglom.* = *Enterobacter agglomerans*
- *E. hafniae* = *Enterobacter hafniae*

Cuadro 11. Bacterias identificadas en pruebas bioquímicas de la tercera repetición.

Pruebas bioquímicas	Zona de muestreo / Medio					
	P1/A	P2/A	P3/A	P1/S	P2/S	P3/S
INDOL	+	-	+	+	-	-
SIM	+	-	-	-	-	-
RM	-	-	+	+	+	+
VP	+	+	-	-	-	-
CITRATO	+	+	-	-	+	-
TSI	+	+	+	-	+	+
LIA	+	+	-	-	-	-
MALONATO	-	+	+	-	+	+
UREA	-	+	+	+	+	+
Nombre de la Bacteria	<i>Serr.</i> <i>marcescens</i>	<i>K.</i> <i>pseumon.</i>	<i>E.</i> <i>agglom.</i>	<i>P.</i> <i>morganii</i>	<i>E.</i> <i>agglom.</i>	<i>E.</i> <i>agglom.</i>

- *Serr. marcescens* = *Serratia marcescens*
- *K. pseumon.* = *Klebsiella psuemoniae*
- *E. agglom.* = *Enterobacter agglomerans*
- *P. morganii* = *Proteus morganii*

Cuadro 12. Promedios de UFC/cm³ en dilución 10³ en aire.

Zona de muestreo	1° Muestreo (UFC/cm ³ de aire)	2° Muestreo (UFC/cm ³ de aire)	3° Muestreo (UFC/cm ³ de aire)	Promedio por zona	Promedio total
Entrada de comedor	381	193	242	338	
patio del comedor	185	66	173	141	165
Cocina de comedor	-	8	15	23	
Promedio por muestreo	188.6	89	143.3	167.3	

Cuadro 13. Promedios de UFC/cm² en dilución de superficie.

Zona de muestreo	1er muestreo (UFC/cm ²)	2do muestreo (UFC/cm ²)	3er muestreo (UFC/cm ²)	Promedio por zona	Promedio total
Entrada del comedor	161	128	152	147	
Centro del patio del comedor	158	106	92	119	108
Cocina del comedor	76	39	63	59	
Promedio por muestreo	131	91	102	108	

Cuadro 14. Especies bacterianas en los puntos de estudio, aire.

Especies identificadas	P2		
	P1 (Entrada del comedor)	(Centro del patio del comedor)	P3 (Cocina del comedor)
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1	2	3
<i>Enterobacter hafniae</i>	1	0	0
<i>Enterobacter sp.</i>	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	2	0
<i>Lactobacillus sp.</i>	0	0	0
<i>Proteus morgani</i>	2	1	0
<i>Serratia marcescens</i>	1	0	0
<i>Staphylococcus sp.</i>	0	0	0
Subtotal	6	5	3

Cuadro 15. Especies bacterianas en los puntos de estudio, superficie.

Especies identificadas	P2		
	P1 (Entrada del comedor)	(Centro del patio del comedor)	P3 (Cocina del comedor)
<i>Enterobacter agglomerans</i>	0	0	2
<i>Enterobacter hafniae</i>	0	2	0
<i>Enterobacter sp.</i>	2	1	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	2	0
<i>Lactobacillus sp.</i>	0	1	0
<i>Proteus morgani</i>	3	0	0
<i>Serratia marcescens</i>	0	0	0
<i>Staphylococcus sp.</i>	0	1	0
Subtotal	5	7	2

Cuadro 16. Género fungí identificadas en los puntos de estudios, aire.

Espece identificada	P1 (entrada al comedor)	P2 (centro del comedor)	P3 (cocina del comedor)
<i>Geotrichum sp.</i>	2	1	2
<i>Aspergillus sp.</i>	1	1	0
<i>Fusarium sp.</i>	0	2	0

Cuadro 17. Género fungí identificadas en los puntos de estudios, superficie.

Espece identificada	P1 (entrada al comedor)	P2 (centro del comedor)	P3 (cocina del comedor)
<i>Geotrichum sp.</i>	1	1	1
<i>Aspergillus sp.</i>	1	1	0
<i>Fusarium sp.</i>	0	1	2

Cuadro 18. Número de especies bacterianas identificadas en aire y superficie.

Especies identificadas	Muestreo en aire	Muestreo en alimentos
<i>Enterobacter agglomerans</i>	6	2
<i>Enterobacter hafniae</i>	1	2
<i>Enterobacter sp.</i>	-	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	2
<i>Lactobacillus sp.</i>	-	1
<i>Proteus morganii</i>	3	3
<i>Serratia marcescens</i>	1	-
<i>Staphylococcus sp.</i>	-	1

Cuadro 19. Número de especies de fungi identificadas en aire y superficie.

Especies identificadas	Muestreo en aire	Muestreo en alimentos
<i>Geotrichum sp.</i>	3	3
<i>Aspergillus sp.</i>	2	1
<i>Fusarium sp.</i>	1	2

Cuadro 20. Perú se encuentra en la latitud -9.1899672 y longitud -75.015152. Hace parte del continente de América del Sur y está ubicado en el hemisferio sur

Inicio	Hemisferio sur del planeta	Duración de la estación
21 de marzo	Otoño	Aproximadamente 92.9 días
21 de julio	Invierno	Aproximadamente 93.7 días
23 de septiembre	Primavera	Aproximadamente 89.6 días
21 de diciembre	Verano	Aproximadamente 89.0 días

Cuadro 21. Tabla del IMVIC.

Tabla del IMVIC según López				
	Indol	R.M.	V.P.	C.S.
<i>Proteus morganii</i>	- 0 +	+	-	- 0 +
<i>Enterobacter agglomerans</i>	-	-	+	-
<i>Enterobacter hafniae</i>	- 0 +	+	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	- 0 +	+	+
<i>Serratia marcescens</i>	-	-	+	+

Cuadro 22. Tabla de identificación de bacterias por reacciones diagnósticas, clave para separar los distintos géneros de bacterias entéricas (BROCK, 1991).

Pruebas bioquímicas	ESCHERICHAEAE		EDWARDSIELLEAE	SALMONELLEAE					KLEBSIELLEAE							PROTEAEAE					
	<i>Escherichia</i>	<i>Shigella</i>	<i>Edwardsiella</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Citrobacter</i>		<i>Klebsiellapneumonia</i>	<i>Enterobacter</i>			<i>Serratia</i>				<i>Proteus</i>			<i>Providencia</i>			
					<i>Ariozona</i>	<i>Freundeni</i>		<i>Diversus</i>	<i>Cloacae</i>	<i>Aerogenes</i>	<i>Hafniae</i>	<i>Agglomerans</i>	<i>Marcescens</i>	<i>Liquefaciens</i>	<i>ribidaea</i>	<i>Vulgaris</i>	<i>Mirabilis</i>	<i>Morganii</i>	<i>Rettgeri</i>	<i>Alcalifasciens</i>	<i>Situarii</i>
INDOL	(+)	(+o-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+o-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
MOTILITY (SIM)	(+o-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+o-)	(+)	(+)	(+o-)	(+)	(+)	(+o-)	(+)	(+)	(+)
METHYL RED	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+o-)	(-)	(-)	(+o-)	(+o-)	(+o-)	(+o-)	(+o-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
VOGES PROSKAUES LISINE	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+o-)	(+o-)	(+)	(+o-)	(+)	(-)	(+o-)	(-)	(-)	(-)	(-)
DESCARBOXYLASE (TSI9)	(d)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+o-)	(+o-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
GRAS FROM GLUCUCOSE (TSI)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+o-)	(+o-)	(+o-)	(d)	(+o-)	(+)	(+o-)	(+o-)	(+o-)	(-)
HIDROGENO SULFI (TSI)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+o-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
SIMONS CITRATE	(-)	(-)	(-)	(d)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(d)	(d)	(+)	(+)	(+o-)	(d)	(+o-)	(-)	(+)	(+)	(+)
MALONATE	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+o-)	(+)	(+)	(+o-)	(+o-)	(+o-)	(+o-)	(-)	(-)	(+o-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
UREA	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(d)	(d)	(+)	(+o-)	(-)	(-)	(d)	(d)	(d)	(d)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)

ANEXO B. Lugar de análisis, materiales utilizados, equipos empleados y puntos de muestreo.



Figura 7. Laboratorio de Microbiología General donde se analizó las muestras.



Figura 8. Balanza analítica y balanza analíticas digital, usadas para los análisis.



Figura 9. Incubadora de 37°C y horno usado para análisis.



Figura 10. Baño María usado para los análisis.



Figura 11. Autoclave y baño maría usados para los análisis.



Figura 12. Contador de colonias e incubadora a temperatura ambiente.



Figura 13. Refrigerador usado para conservar las muestras.



Figura 14. Microscopio electrónico usado para los análisis.



Figura 15. Reactivos usados en el análisis de aire y superficie.



Figura 16. Preparado de caldo BHI en 100ml de H²O en matraces Erlenmeyer.



Figura 17. Materiales de muestreo de aire transportados en caja hermética.



Figura 18. Toma de muestra de aire en la entrada del comedor de la UNAS.



Figura 19. Toma de muestra de aire en el centro del comedor de la UNAS.



Figura 20. Toma de muestra de aire en la cocina del comedor de la UNAS.



Figura 21. Toma de muestra de superficies de la entrada del comedor de UNAS.



Figura 22. Toma de muestra de superficies del centro del comedor de la UNAS.



Figura 23. Toma de muestras de superficie de la cocina del comedor de la UNAS.



Figura 24. Aislamiento de bacterias y fungi en placas Petri.



Figura 25. Pesado de reactivos.



Figura 26. Medios enriquecedores (CLED, Mac Conkey, Manitol Salado, M77).



Figura 27. Preparación de medio enriquecedor Mac Conkey.



Figura 28. Preparación de medio enriquecedor M77.



Figura 29. Preparación de medio enriquecedor Manitol Salt.



Figura 30. Preparación de medio enriquecedor CLED.



Figura 31. Medios enriquecedores preparados.



Figura 32. Sembrado de bacterias de los matraces hacia los medios enriquecedores.



Figura 33. Tubos esterilizados para las pruebas bioquímicas.



Figura 34. Tubos listos para el sembrado de bacterias (pruebas bioquímicas).



Figura 35. Siembra por puntura, estrías y enjuague en pruebas bioquímicas.



Figura 36. Colorantes usados en reacciones bioquímicas.



Figura 37. Agregando los colorantes a las pruebas bioquímicas.



Figura 38. Lectura de pruebas bioquímicas.



Figura 39. Lectura de pruebas bioquímicas.



Figura 40. Preparado de placas para el cultivo de fungi.



Figura 41. Preparación para el cultivo de fungi.

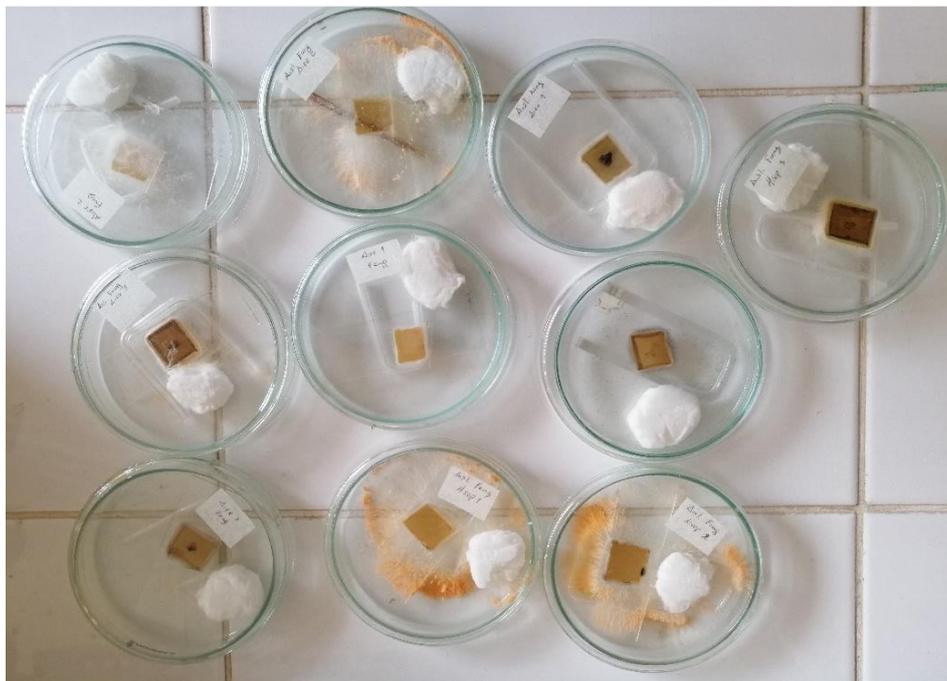


Figura 42. Micro cultivo de fungi.



Figura 43. Prueba de coloración.



Figura 44. Prueba de coloración.

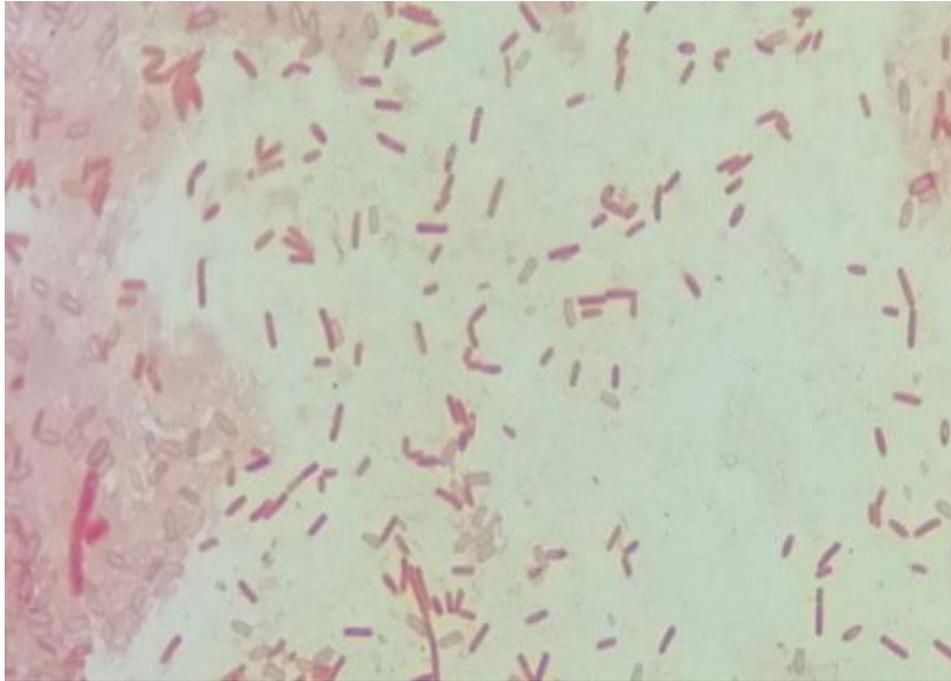


Figura 47. Enterobacter sp observado mediante la visualización microscópica (100X).

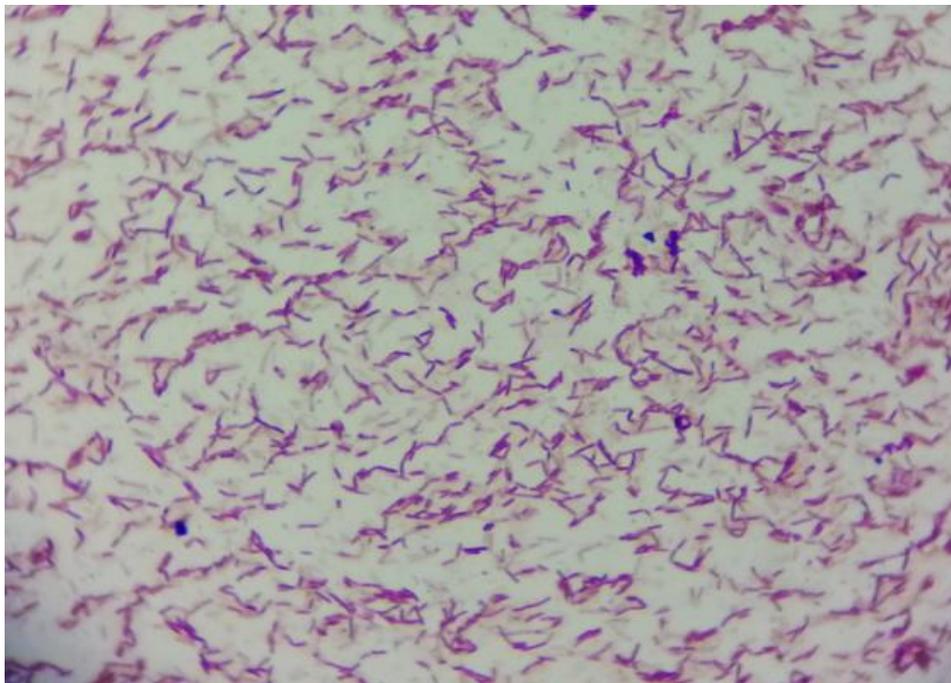


Figura 48. Lactobacillus sp observado al microscopio con aumento de 100X.

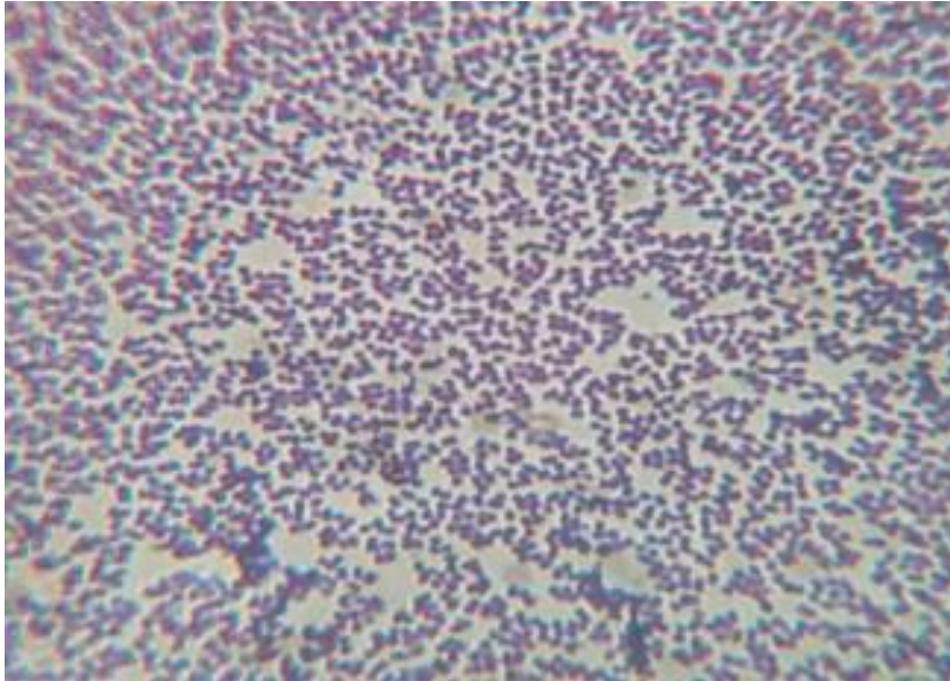


Figura 49. Staphylococcus sp observados al microscopio con aumento de 100X.

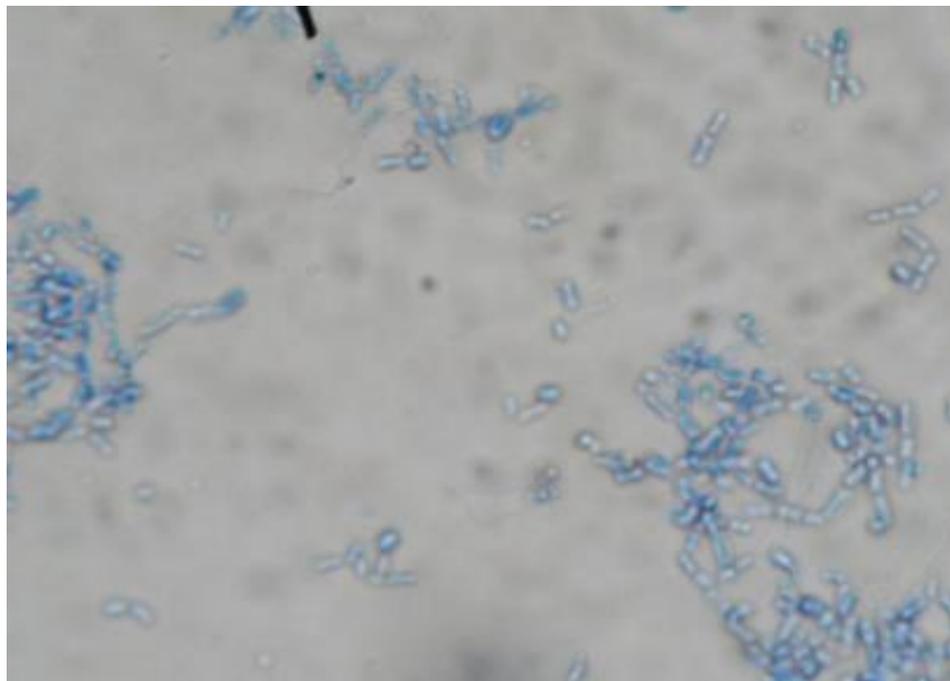


Figura 50. Geotrichum sp observado al microscopio con aumento de 40X.



Figura 51. *Aspergillus* sp observado al microscopio con aumento de 40X.

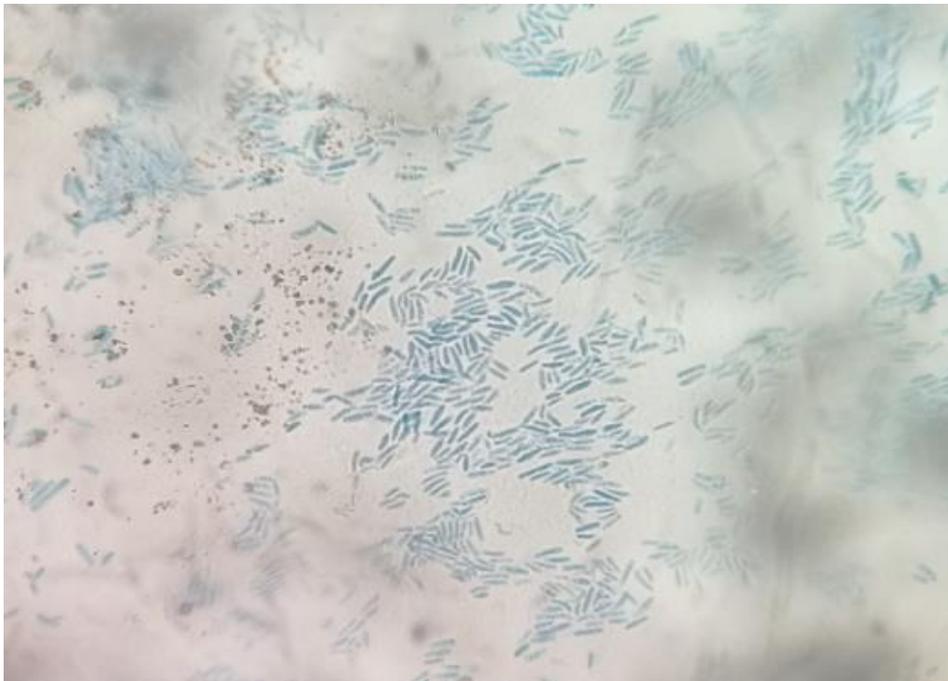


Figura 52. *Fusarium* sp observado al microscopio con aumento de 40X.