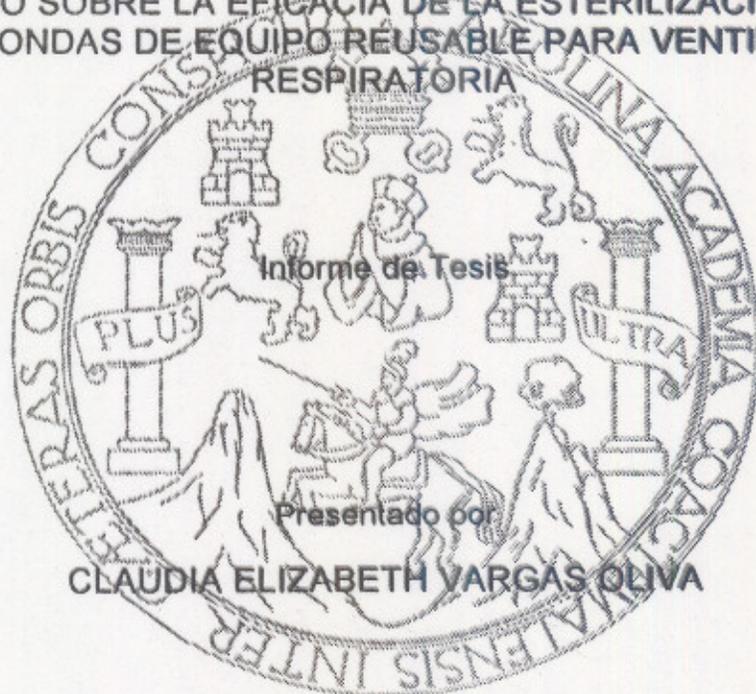


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

ESTUDIO SOBRE LA EFICACIA DE LA ESTERILIZACION CON
MICROONDAS DE EQUIPO REUSABLE PARA VENTILACION



Para optar al título

de

QUIMICO BIOLOGO

Guatemala, noviembre de 1994

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

DL
06
†(1624)

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

DECANO	LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
SECRETARIA	LICDA. ELEONORA GAITAN IZAGUIRRE
VOCAL I	LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ
VOCAL II	LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN
VOCAL III	LIC. MIGUEL ORLANDO GARZA SAGASTUME
VOCAL IV	BR. JORGE LUIS GALINDO AREVALO
VOCAL V	BR. EDGAR ANTONIO GARCIA DEL POZO

DEDICO ESTE ACTO

A DIOS

Quien es mi Señor, mi padre, mi guía y mi consolador. Tu bondad y tu amor me acompañan a lo largo de mis días.

A MI PADRE

Dr. José Efraín Vargas Córdón⁺
por su incansable ejemplo de rectitud, tenacidad
y bondad ante la vida que viviran en mi por siempre.

A MI MADRE

Lic. Vilna Oliva de Vargas
Con amor y admiración por todos sus esfuerzos
y por ser el ejemplo de una gran madre y mujer.

A MIS HERMANOS

Laura Vargas de Cohen, Francisco José Vargas Oliva,
Eduardo Cohen D, Claudia Nuñez de Vargas por todo
el amor y unión que nos caracteriza.

A MIS SOBRINOS

Ricardo y Andrea.

A MI NOVIO

Dr. Mario Enrique Meneses U. por su apoyo y
amor en todo momento.

A MI FAMILIA

A TODOS USTEDES QUE ME ACOMPAÑAN EN ESTE ACTO.

DEDICO ESTA TESIS

A DIOS

A GUATEMALA

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

A MIS PADRES

A LOS DOCTORES:

- Gustavo Adolfo Gini
- Pablo Yurrita
- Angel Rodriguez Prieto
- Miriam de chang

A MIS MAESTROS

A MIS AMIGOS DE PROMOCION

INDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCION.....	2
3. ANTECEDENTES.....	3
4. JUSTIFICACION.....	16
5. OBJETIVOS.....	17
6. HIPOTESIS.....	18
7. MATERIALES Y METODOS.....	19
8. RESULTADOS.....	25
9. DISCUSION DE RESULTADOS.....	30
10. CONCLUSIONES.....	32
11. RECOMENDACIONES.....	33
12. REFERENCIAS.....	34
13. ANEXOS.....	37

1. RESUMEN

Debido a las limitaciones económicas que enfrentan la mayoría de los hospitales públicos en Guatemala, el uso de equipo descartable para la ventilación respiratoria, no ha sido una de las mejores alternativas para disminuir la incidencia de las infecciones nosocomiales. Estos son reutilizados y esterilizados con métodos cuya aplicación correcta es difícil.

Con el afán de buscar nuevas alternativas para la esterilización de este tipo de equipo, el presente trabajo tuvo como propósito establecer si las microondas logran la esterilización bacteriana.

La investigación se realizó de la siguiente forma: Primero se prepararon los controles biológicos conteniendo esporas de *Bacillus subtilis* y *Bacillus stearothermophilus* a concentraciones de 10^4 , 10^5 y 10^6 UFC/ml.

Tanto los controles biológicos preparados, como controles biológicos comerciales se sometieron a cuatro diferentes tiempos de exposición a las microondas. Se trabajaron unidades experimentales de cinco muestras por concentración y tiempo, sumando un total de 160 controles biológicos.

En base a los resultados obtenidos se determinó que el tiempo necesario para eliminar a las esporas es de 20 minutos de exposición a las microondas, no existiendo diferencia entre la esterilización del *B. subtilis* y *B. stearothermophilus*.

Se verificó que el equipo de ventilación respiratoria resistiera los 20 minutos de exposición a las microondas sin provocar daños en su estructura y funcionalidad. Posteriormente se contaminó el equipo con *B. stearothermophilus* a una concentración de 10^6 UFC/ml. De las 38 muestras expuestas a las microondas, en 26 de ellas se obtuvo un crecimiento después de la esterilización. Lo cual indica que en el 68.42% de las muestras trabajadas, la esterilización no fue efectiva para eliminar totalmente a las esporas del *B. stearothermophilus*.

Por lo tanto, con el presente estudio se logró concluir que las microondas logran la esterilización bacteriana, pero no es un método efectivo y confiable para el equipo de ventilación respiratoria.

2. INTRODUCCION

En los últimos treinta años, las infecciones nosocomiales han sido problema de interés primario. El riesgo de adquirir una infección nosocomial, aumenta en los pacientes hospitalizados en la Unidad de Terapia Intensiva (UTI), y es aún mayor en pacientes con intubación endotraqueal que reciben soporte respiratorio (1).

Las causas por las cuales se adquieren estas infecciones han obligado a implementar sistemas adecuados que disminuyan estos riesgos. Al principio de los años 70, varios dispositivos médicos reusables que podían ser limpiados y reesterilizados, fueron sustituidos por material médico descartable (2). Sin embargo, en recientes esfuerzos por ahorrar recursos económicos, algunos hospitales están reutilizando los dispositivos médicos descartables, especialmente los relacionados con la ventilación respiratoria.

Los hospitales deben estar conscientes que si utilizan los dispositivos desechables repetidamente, la responsabilidad asociada con las infecciones causadas por estos artículos pasa del fabricante al usuario. Se deben emplear protocolos de limpieza y "esterilización" estandarizados que garanticen la efectividad del proceso, así como la seguridad de mantener los dispositivos en óptimas condiciones, evitando daños que puedan afectar el funcionamiento correcto y efectivo del equipo.

Con este estudio se pretendió establecer si las microondas son capaces de destruir a los microorganismos que pueden colonizar equipo descartable reusable, utilizando para este trabajo, como control biológico, esporas de *Bacillus subtilis* y *Bacillus stearothermophilus*. Se evaluaron diversas técnicas para certificar la eficacia de la esterilización del equipo reusable para la ventilación respiratoria, y se determinó la posibilidad de otras alternativas de esterilización.

3. ANTECEDENTES.

3.1 LAS INFECCIONES HOSPITALARIAS:

Las infecciones hospitalarias producen una morbilidad sustancial, prolongan la permanencia en el hospital, aumentan el costo del cuidado sanitario y la incidencia de la mortalidad de los pacientes (3).

En general, los pacientes internados en la Unidad de Terapia Intensiva (UTI) presentan mayor riesgo de infección hospitalaria que los hospitalizados en otras unidades.

Además de las infecciones endémicas, las infecciones epidémicas están significativamente aumentadas en las áreas de terapia intensiva. La mayoría de las epidemias se produce en las UTI y están relacionadas con equipos o productos hospitalarios contaminados (1,2).

Los pacientes de la UTI son particularmente vulnerables a: a) infecciones primarias, la mayoría relacionadas con materiales de uso intravascular (catéteres arteriales, catéteres de la arteria pulmonar, catéteres de Hickman-Broviac, etc) b) neumonías, asociadas con los procedimientos de la terapia respiratoria, y c) infecciones intra-abdominales, relacionadas con los traumas o la cirugía (1,4).

Los catéteres constituyen una causa frecuente de infecciones intrahospitalarias, muchas de las cuales podrían evitarse. El riesgo de dichas infecciones se agravan con la permanencia prolongada del catéter, su manipulación, la inexperiencia para colocarlo, las transgresiones de la técnica aséptica, el empleo de catéteres con conductos múltiples y la esterilización inadecuada de los catéteres reusables (5).

Las sondas endotraqueales y el equipo de ventilación respiratoria son, en muchos casos, los causantes de la aparición de infecciones respiratorias (6).

3.1.1 LAS INFECCIONES RESPIRATORIAS:

El riesgo de adquirir una infección nosocomial es bastante elevado en los pacientes con intubación endotraqueal que reciben soporte respiratorio. El uso de técnicas inadecuadas en la intubación y en la esterilización del equipo utilizado, el tiempo prolongado de la ventilación y los trastornos de la función normal de las defensas del tracto respiratorio son factores que contribuyen a provocar cambios en la microbiota, con una colonización por bacterias patógenas capaces de desarrollar, en algunos pacientes, una neumonía intrahospitalaria (7).

Los pacientes con más de 12 horas de nacidos y con más de 72 horas de estar en terapia ventilatoria, tienen particular riesgo de colonización en el tracto respiratorio con la subsecuente sobreinfección pulmonar (8).

El diagnóstico de la colonización o del proceso infeccioso pulmonar es con frecuencia difícil, ya que las manifestaciones clínicas, especialmente en los recién nacidos, pueden ser poco evidentes y se parecen a las de otras enfermedades comunes. Resultado de todo esto, es que el diagnóstico de la infección no resulta fácil y a veces demora hasta que el proceso se manifiesta abiertamente (8,9).

Un gran número de las infecciones intrahospitalarias y las colonizaciones son transmitidas de persona a persona a través del equipo contaminado y por las manos del personal. Este riesgo es mayor en pacientes en terapia respiratoria, por ello, el uso de una profilaxis antimicrobiana es recomendable. Es probable que la utilización masiva de

antibióticos de amplio espectro seleccione los tipos de microorganismos involucrados en las infecciones (4,6,9).

La introducción reciente de las cefalosporinas de segunda y tercera generación ha sido asociada con el reconocimiento de las infecciones causadas por el *S. epidermidis*, los enterococos, los bacilos gram negativo más resistentes y las levaduras (3).

3.2 LA ESTERILIZACIÓN:

El propósito principal de un proceso de esterilización es destruir los microorganismos que están presentes en un objeto o preparado, bien en su interior o en su superficie, y de esta manera asegurar que está libre de agentes infecciosos (9).

Para este proceso debe considerarse un sistema constituido por varios elementos esenciales:

a. Selección de materias primas y composición o preparación del material de una manera que haya una carga microbiana mínima (tipos y cantidades de contaminación microbiana que han de ser inactivados por el proceso de esterilización).

b. Elección de envases que sean compatibles con el proceso de esterilización y mantengan la esterilidad después de la esterilización.

c. Aplicación de un tratamiento de esterilización adecuado que sea compatible con los materiales y los envases que se esterilizan.

d. Verificación de la esterilización .

e. Almacenamiento correcto de los artículos estériles (10).

El procedimiento que se utiliza para esterilizar depende en gran medida de la índole del producto. A los métodos para inactivar microorganismos se les puede clasificar en físicos o químicos. Los métodos físicos comprenden el calor húmedo, el calor seco y la radiación. Los métodos químicos comprenden el uso de los esterilizantes líquidos o gaseosos (9,11).

3.2.1 LA ESTERILIZACION CON VAPOR:

En la esterilización con calor húmedo, la causa de la muerte del microorganismo es distinta que en la esterilización con calor seco; en efecto, cuando se utiliza calor húmedo el microorganismo muere porque se coagula la proteína celular, mientras que con el calor seco se le destruye principalmente por medio de un proceso oxidativo (9,12).

La USP define la esterilización por vapor como el empleo de vapor saturado, a presión, (en un recipiente de presión regulada), a temperatura de 121°C, por lo menos durante 15 minutos (12).

3.2.2 EL CALOR SECO:

Algunos materiales no pueden esterilizarse al vapor, por lo que para alguno de ellos se utiliza la esterilización con calor seco.

Este es uno de los métodos más antiguos que se conocen, es menos eficiente que el húmedo, ya que requiere más tiempo de exposición y la aplicación de temperaturas más altas. De acuerdo con el tipo de los indicadores de esterilidad empleados, las condiciones de humedad y otros factores, se ha establecido una amplia variedad de tiempos de inactivación, por lo que no se puede definir una rutina de ciclos exactos y correctos de tiempo y temperatura (9,12).

Para los productos hospitalarios hay que actuar con cautela en el diseño de los ciclos de la esterilización con calor seco y se debe practicar una validación sistemática de la esterilidad a través de algún método estandarizado aceptado (13).

3.2.3 LA ESTERILIZACION POR GAS:

La aplicación correcta de cualquier tipo de esterilización gaseosa es mucho más difícil que la de vapor o la de calor seco porque hay que controlar más parámetros. Las cámaras para esterilización con gases requieren del control de la temperatura, la humedad, la concentración de gas y el tiempo de la exposición. El gas debe distribuirse con uniformidad dentro de la cámara y el material envolvente debe ser lo suficientemente permeable para permitir la penetración de la humedad, el calor y el gas, pero al mismo tiempo debe proteger debidamente el paquete estéril aún después de su esterilización (9,12,14).

Existe una variedad de gases que poseen propiedades germicidas como el óxido de etileno, el formaldehído, el óxido de propileno, el beta-propiolactona, el ozono, la cloropicrina, el ácido paracético y el bromuro de metilo; siendo el óxido de etileno el más utilizado en el proceso de la esterilización (9).

3.2.4 EL OXIDO DE ETILENO:

El óxido de etileno es el compuesto epoxi más sencillo que existe; es un gas incoloro, muy reactivo e inflamable. Para fines de esterilización este se expande a partir del líquido puro, o se mezcla al 10 por ciento con dióxido de carbono o al 12 por ciento con clorofluorocarbonos. El gas puro es muy explosivo y su intervalo de

inflamabilidad mezclado con el aire abarca desde el 3.6 hasta el 100 por ciento en volumen. La dilución del gas con clorofluorocarbonos produce una mezcla no inflamable (9,12).

Una ventaja del óxido de etileno es que los productos pueden esterilizarse ya embalados desde el punto de origen porque el gas atraviesa las películas y los cartones de plástico sellados. El óxido de etileno tiene la desventaja de ser tóxico, de ser un método más costoso y de necesitar más atención en los controles del proceso que la esterilización con vapor o por radiación (12).

También es de tomar en consideración el control de los residuos del óxido de etileno o de los subproductos reaccionales que se forman en los materiales tratados y el control de los niveles de exposición de los operarios por debajo de los límites establecidos por la Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA) (9,11).

Entre los residuos indeseables producidos por la exposición al óxido de etileno están la etilenclorhidrina y el etilenglicol. Algunos plásticos, fibras y productos de goma absorben los gases, que pueden lesionar la piel. Los peligros más grandes con estos residuos se presentan en los laboratorios y en los hospitales donde los materiales se usan inmediatamente después de haberlos esterilizado, sin exponerlos a una buena aireación. Lo ideal es que los productos tratados sean desgasificados, y permanezcan a temperatura ambiental por varios días o bien sean sometidos a la acción de aireadores especiales durante los periodos que recomienda el fabricante (9,11,12).

3.2.5 LA RADIACION:

Los principios de la esterilización mediante la radiación se conocen desde comienzos de los años 40. En esencia, la interacción de partículas de alta energía con

la materia produce ionizaciones y excitaciones . La ionización conduce a la formación de pares iónicos consistentes en electrones orbitarios eyectados (cargados negativamente) y sus contrapartes (partículas con carga positiva) (9,13).

La esterilización mediante este método requiere que se tenga en cuenta la dosis o cantidad de la radiación, el nivel energético disponible, y la fuente de energía disponible (que determina la velocidad con que se puede aplicar la dosis) (12).

La unidad de la radiación que se utiliza es el rad (absorción de 100 ergs/g). Las dosis esterilizantes se suelen expresar en megarrads (Mrad) por razones de conveniencia. En general, se acepta que en la mayoría de las condiciones la dosis de la radiación de 1.5 a 2.5 Mrad es suficiente para destruir los microorganismos más resistentes con un margen de seguridad satisfactorio (13).

La radiación se usa para esterilizar artefactos de uso hospitalario, vitaminas, antibióticos, esteroides, hormonas, transplantes de huesos y tejidos e instrumentos médicos como las jeringas de plástico, las agujas, las hojas de bisturí, los catéteres, las prótesis, las cajas de Petri y las suturas (9,11,14).

3.2.6 LAS MICROONDAS:

Las microondas se ubican en el espectro electromagnético entre las ondas de radio y la luz infrarroja. Las ondas electromagnéticas se generan por la aceleración de las cargas eléctricas.

Al igual que los rayos infrarrojos, las microondas hacen vibrar las moléculas de los cuerpos en los que inciden, produciendo su calentamiento. Para que se produzca la vibración de las moléculas se requiere que éstas sean dipolares, es decir, que tengan

alguna separación entre las cargas eléctricas positiva y negativa, tal como sucede con las grasas, los azúcares y, fundamentalmente, con el agua. Los plásticos, la porcelana y el vidrio, por ejemplo, no vibran con las microondas. Por el contrario, los recipientes metálicos reflejan la radiación y se produce una especie de "tendencia a la explosión" (15).

La aceleración de las cargas eléctricas para generar las microondas se logra con el uso de dispositivos electrónicos como el *magnetron* o en el *klistron*. En cualquiera de estos dispositivos, desde un cátodo se emite un haz de electrones que se hace pasar a través de un campo magnético alterno de muy alta frecuencia que hace vibrar las cargas eléctricas. Las variaciones de energía cinética de las cargas se convierten en energía radiante con longitudes de onda entre 1 milímetro y 1 metro (15).

En el horno de microondas, la radiación emitida por el magnetron tiene una longitud de onda de alrededor de 10 cm y aproximadamente 1,000 watts (equivalente a la potencia de 10 bombillas incandescentes de 100 watts). Las ondas generadas llegan a la cámara del horno pasando por un tubo "guía de ondas". En la cámara, las ondas, directamente y por reflexión, llegan a la zona en donde se coloca la porción de alimento. Las paredes del horno están diseñadas especialmente para que las microondas se reflejen uniformemente. Para asegurar la incidencia uniforme de la radiación se utiliza el denominado *wobbler*, una hélice de alta frecuencia y, adicionalmente, una plataforma giratoria en donde se coloca el recipiente. Las microondas cambian de dirección 2,500 millones de veces por segundo y mueven las moléculas provocando fricciones que producen calor. La energía de las microondas es absorbida a distintas velocidades, según la densidad de cada alimento (15,16,17).

En lo que respecta a la seguridad para el usuario, las paredes del horno reflejan la radiación en su totalidad hacia el interior, debido a que son metálicas. Además, la ventanilla frontal tiene una malla metálica muy fina que permite ver el interior pero, al mismo tiempo, no deja que la radiación pase al exterior. El sello de la puerta está diseñada también para no dejar salir la radiación (16).

En cuanto al temor de los posibles efectos de la exposición a la fuga de radiación (ya sea porque el horno presente averías físicas o bien funcione defectuosamente), es conveniente mencionar que la densidad de la potencia decrece muy rápidamente con la distancia. En el peor de los casos, al haber una fuga de 0.15 mW/cm^2 , la densidad de potencia a una distancia de 30 cm. sería menor de 0.15 mW/cm^2 y a 1 m sería de unos 10 uW/cm^2 . Estos valores de fuga implican, por lo tanto, valores de exposición bastante bajos respecto de los valores máximos aceptados actualmente. La IRPA (Asociación Internacional de Radioprotección) recomienda 1 mW/cm^2 , como el valor máximo de una exposición (16,18).

Las microondas han sido utilizadas recientemente en el proceso de esterilización, debido a su actividad en contra de parásitos, helmintos y protozoos, bacterias y virus. Su mecanismo de acción se basa no solamente en la producción de calor sino principalmente en cambios producidos por las microondas directamente sobre la célula y los complejos multienzimáticos, lo que interfiere con la síntesis de proteínas y altera los mecanismos de transporte a nivel de la membrana celular (19,20,21).

Robert K. Hampson y cols. del departamento de Bioquímica y Farmacología de la Universidad de Texas, en 1982 publicaron un estudio en el cual evaluaron la actividad de cuatro enzimas mitocondriales luego de la exposición a las microondas. Estas enzimas fueron inactivadas en un 95 por ciento al alcanzarse una temperatura de 65° C . Además

de estos efectos, las microondas permeabilizaron la membrana de los nucleótidos y se registró una fuga extensa de ATP y NAD⁺ hacia la suspensión (21). Las bacterias son microorganismos que no poseen mitocondrias pero sí poseen importantes complejos enzimáticos que contribuyen a su supervivencia (22).

Sifuentes Osornio y cols. del Instituto Nacional de Nutrición y Hospital de Pediatría del Instituto Mexicano de Seguridad Social (IMSS), diseñaron un estudio para comprobar el tiempo requerido en esterilizar cultivos puros de bacterias. La mayoría de bacterias y hongos fueron eliminados con cinco minutos de exposición a las microondas (23).

S. K. Young y cols. del colegio de Odontología de la Universidad de Oklahoma, USA, publicaron un estudio en el que evaluaron la capacidad de las microondas para esterilizar cánulas nasales contaminadas con rinovirus, parainfluenza, adenovirus y herpes simple. Ellos encontraron que el 95 por ciento de la actividad viral fue totalmente destruida al minuto de exposición a las microondas, en un horno de microondas convencional. Al final de los cuatro minutos, encontraron inactivación total de los 4 virus. La exposición repetida de estas cánulas a las microondas no ocasionó daño ni a la textura ni a la flexibilidad de las mismas (20).

3.3 LA VALIDACION DE LA ESTERILIZACION:

En todo proceso de esterilización es imprescindible realizar algún tipo de control que nos asegure que se ha conseguido la destrucción de todos los microorganismos. Existen tres tipos de controles: los físicos, los químicos y los biológicos (9,24).

Los controles físicos nos permiten reconocer si el funcionamiento mecánico del esterilizador ha sido correcto (termómetros, manómetros, diagramas, etc.) Los controles

químicos utilizan sustancias químicas que cambian de color cuando en el interior de la cámara se cumple con las condiciones de temperatura, con la concentración del agente esterilizante y con el tiempo de exposición de que depende la esterilización, pero no nos aseguran que todos los microorganismos han muerto durante el proceso. Los controles biológicos son cultivos de microorganismos no patógenos en forma de esporas las cuales ofrecen gran resistencia a los agentes esterilizantes. Las cantidades son mayores que la contaminación normal del producto. Este último es el único sistema fiable que nos asegura la destrucción total de los microorganismos (24,25).

La mayoría de los microorganismos en desarrollo activo son formas vegetativas que resisten poco al calor y los desinfectantes, pero algunas formas de bacterias, entre ellas las causantes del carbunco, el tétanos y la gangrena gaseosa, pueden pasar a un estado esporulado que es más resistente al calor y a muchos desinfectantes. Por este motivo, una manera excelente para determinar si una esterilización es eficaz es la verificación de la destrucción de las formas esporuladas (9,25).

Entre las especies de bacterias más aceptadas como indicadores biológicos están *Bacillus stearothermophilus* y *Bacillus subtilis*, generalmente a una concentración de 1×10^4 UFC/ml. Se pueden emplear otras especies, sin afectar mayormente la validez de la interpretación de la esterilidad, siempre que se cumplan los requisitos primordiales de: 1) mayor concentración y 2) mayor resistencia, en comparación con las características del microorganismo contaminante en el material a esterilizar (26,27).

La resistencia de un indicador biológico a la esterilización puede definirse de dos maneras: reducción de la población a un décimo (Valor D), y el tiempo de supervivencia/muerte.

La reducción de la población a un décimo se define como el tiempo en minutos necesario para la destrucción del 90 por ciento de los microorganismos de una población

microbiana uniforme. Los valores D proveen un medio para establecer ciclos de esterilización confiables.

El tiempo de supervivencia/muerte nos indica la resistencia de la población microbiana al agente esterilizante (9,25).

3.4 EL GENERO *BACILLUS*:

Este género comprende un gran número de especies que son aerobias o facultativas, por lo general Gram positivo y que forman esporas (28). Se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza y, por lo tanto, son considerados microorganismos contaminantes. En su mayoría son saprófitos, por lo que ha sido tradicional reducir su importancia en la microbiología clínica. Sin embargo en los últimos años, las especies de *Bacillus* distintas al bacilo del antrax han sido implicadas como causantes de infecciones graves, asociadas con la inmunosupresión, la septicemia, la endocarditis, la osteomielitis, las heridas traumáticas, las quemaduras, las hemodiálisis, las técnicas operatorias y en la intoxicación por alimentos (29,30).

Pueden crecer o no en agar con eosina y azul de metileno. Algunas veces se confunden con los bacilos Gram negativo no fermentativos debido a que el género *Bacillus* puede variar en su comportamiento con la tinción de Gram, la reacción de oxidasa y otras pruebas. Así mismo a veces no se observan esporas (30).

En agar sangre luego de 18 a 24 horas de incubación a 35° C, las colonias son de 2 a 5 mm de diámetro, no hemolíticas o con hemólisis beta débil. Las colonias de más de 36 horas en agar sangre, agar tripteína soya o agar nutritivo, tienen una textura rugosa, con borde aserrado. Las colonias de *Bacillus subtilis* son grandes, aplanadas y

opacas y se pueden desarrollar a 50°C *Bacillus stearothermophilus* puede desarrollarse a 65° C (29,30) (Tabla No.1).

Los endosporos son centrales a subterminales, no hinchados y frecuentemente en los cultivos aparecen en estado libre. La esporulación es más intensa en los cultivos bien oxigenados, puede ser estimulada con la adición de esculina a los agares o puede facilitarse en medios acidificados . Las esporas pueden sobrevivir al tratamiento con los desinfectantes comunes, y muchas son resistentes a la temperatura de ebullición del agua (100°C) (28).

4. JUSTIFICACION

En Guatemala, la mayoría de los hospitales nacionales no cuentan con suficientes recursos económicos para la compra de equipo médico descartable para cada paciente. Esto obliga a utilizar el equipo varias veces y por consiguiente a reesterilizarlo.

Por el tipo de material, surgen muchos inconvenientes con los métodos de esterilización comúnmente utilizados. Generalmente, se utiliza la esterilización por gas, cuya aplicación correcta es difícil y deben de controlarse muchos parámetros, entre ellos: los tiempos de exposición, la efectividad de la esterilización, la eliminación de residuos indeseables que implican problemas de toxicidad para el paciente, y el nivel de exposición al que están sometidos los operarios.

Tomando en cuenta estos y otros aspectos es importante el estudio de un método de esterilización que sea más sencillo, rápido, económico y seguro. La esterilización por microondas puede ser una de las mejores alternativas.

5. OBJETIVOS

1. Establecer si las microondas logran la esterilización bacteriana.
2. Establecer el indicador biológico más adecuado para este proceso.
3. Determinar los tiempos de exposición a las microondas para una esterilización efectiva.
4. Encontrar el material de empaque más apropiado para este tipo de esterilización.
5. Dar a conocer los resultados de la investigación, especialmente a las Instituciones que utilizan material reusable y que podrían beneficiarse con este estudio.

6. HIPOTESIS

Las microondas matan las esporas de *Bacillus subtilis* y *Bacillus stearothermophilus*, indicadores biológicos de una esterilización efectiva.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 UNIVERSO DE TRABAJO:

Se estudió la eficacia de la esterilización con las microondas, utilizando diferentes concentraciones de esporas de *Bacillus subtilis* y *Bacillus stearothermophilus* sometidas a diferentes tiempos de exposición. En base a los resultados obtenidos se contaminó el equipo de "Ventilación Respiratoria" con esporas de *Bacillus stearothermophilus* a una concentración y a un tiempo de exposición a las microondas.

7.2 MEDIOS

7.2.1 RECURSOS HUMANOS:

- Estudiante: Br. Claudia Elizabeth Vargas Oliva.
- Asesor del Estudio: Lic. Gustavo Adolfo Gini Aguilera.
- Asesor estadístico: Lic. Jorge Luis De León.

7.2.2 RECURSOS FISICOS

7.2.2.1. RECURSOS INSTITUCIONALES

- Hospital General de Enfermedad Común del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS).
- Sanatorio "Nuestra Señora del Pilar".

7.2.2.2 MUESTRAS:

A. Controles Biológicos:

- Cepa de *Bacillus subtilis* ATCC 9372
- Cepa de *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953
- Bioindicador "Sterikon" (MERCK).
- Bioindicador "Attest" 1262 (3M)

B. Equipo reusable de "Ventilación 6,400":

- tubos corrugados largos
- tubo corrugado corto
- tubo corrugado flexible
- codos
- Boquilla proximal

7.2.2.3 EQUIPO Y CRISTALERIA:

- Horno de Microondas marca Tappan, modelo 56-9431
800 watts, con plato giratorio.
- Incubadora a 56°C
- Baño de María a 58°C
- Autoclave
- Microscopio
- Mechero bunsen
- Viales de vidrio estériles
- Recipiente plástico
- Bolsas plásticas para microondas (Reynold's Oven Bags)
- Plástco adhesivo para microondas (Clear Plastic Wrap)
- Hisopos estériles
- Asas

- Termómetro
- Cajas de Petri
- Guantes estériles
- Erlenmeyer de 500 ml (Pyrex)

7.2.2.3 MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS:

- Agar Tripticasa soya
- Caldo Tripticasa soya
- Indicador azul de bromotimol
- Indicador púrpura de bromocresol
- Colorantes para la Tinción de Gram: cristal violeta, lugol, alcohol acetona y safanina.
- Acido Acético al 10%
- Solución salina estéril al 0.85%

7.3 PROCEDIMIENTO

7.3.1 PREPARACION DE LOS CONTROLES BIOLÓGICOS:

- Se utilizó cepa de *Bacillus subtilis* ATCC 9372 y *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953 provenientes de controles biológicos comerciales.

- Se inoculó cada cepa en 250 ml de caldo de tripticasa soya. Se incubaron por 12, 15, y 24 horas a $56 \pm 2^\circ\text{C}$ *Bacillus stearothermophilus*, y a $52 \pm 2^\circ\text{C}$ *Bacillus subtilis*.

- Se realizó un recuento en placa para cada tiempo de incubación utilizando agar tripticasa soya, a manera de alcanzar concentraciones de 10^4 , 10^5 y 10^6 UFC/ml.

- Se realizó shock térmico para esporular a las bacterias.

- Se prepararon los controles biológicos conteniendo cada una de las concentraciones de esporas y un indicador de pH "Azul de bromotimol" para *B. subtilis* y "Púrpura de bromocresol" para *B. stearothermophilus*.

7.3.2 EFECTO DE LA ESTERILIZACION SOBRE CONTROLES PREPARADOS Y CONTROLES COMERCIALES:

Los controles preparados y los controles comerciales fueron sometidos a microondas de 800 watts, con plato giratorio, durante 5, 10, 15 y 20 minutos.

Los viales se incubaron después entre 24 y 72 horas a $52 \pm 2^\circ\text{C}$ *B. subtilis* y a $56 \pm 2^\circ\text{C}$ *B. stearothermophilus*. Se observaron diariamente para buscar características que indican crecimiento bacteriano: turbidez y/o cambio de color en el medio de cultivo.

Para verificar la esterilización se sembraron alícuotas de cada vial en agar tripticasa soya, incubandolos por 48 horas.

7.3.3 RESISTENCIA DEL EQUIPO DE VENTILACION Y MATERIAL DE EMPAQUE A LAS TEMPERATURAS DEL PROCESO DE ESTERILIZACION:

Previo a la contaminación, se verificó que el equipo de ventilación respiratoria resistiera a la temperatura a la cual fue expuesto (20 minutos de exposición a las microondas, determinado en base a todos los procedimientos anteriores) sin provocar daños en su estructura y funcionalidad. Así mismo se verificó la resistencia del material de

empaque: Plástico corriente para microondas (Clear Plastic Wrap) y bolsas plásticas para microondas (Reynold's Oven Bags).

7.3.4 CONTAMINACION DEL EQUIPO DE VENTILACION:

El equipo se contaminó con esporas de *Bacillus stearothermophilus* a una concentración de 10^6 UFC/ml, utilizando para ello un hisopo de algodón impregnado con el cultivo líquido. Posteriormente se lavó con una solución de ácido acético al 10%, como usualmente se lavan en estos procedimientos. Se envolvió el equipo en el material de empaque exponiéndolo a las microondas por un tiempo de 20 minutos.

7.3.6 CONTROL DE LA ESTERILIDAD:

Inmediatamente después de la exposición a las microondas, el equipo se introdujo en frascos con caldo de tripticasa soya por 120 horas a $56 \pm 2^\circ\text{C}$. Se observó diariamente para buscar características que indican crecimiento bacteriano: turbidez y/o burbujas de gas.

Para verificar la esterilización se sembró un inóculo de cada frasco en agar tripticasa soya, incubandolos por 48 horas.

7.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se estableció la eficacia de la esterilización utilizando como control biológico viales con esporas de *Bacillus subtilis* y *Bacillus stearothermophilus*, a cuatro diferentes concentraciones y cuatro diferentes tiempos de exposición a las microondas (tratamiento=12). Se verificó la esterilización por crecimiento en medio de cultivo adicional.

Variable de respuesta: presencia o ausencia de crecimiento.

Evaluación: 100% es considerado aceptado.

Se utilizó un diseño Pre-Experimental XO, donde X significa un tratamiento experimental y O significa una observación (31). El tamaño de muestra N=5, debido a la efectividad esperada por el diseño. No interesa comparar, solo evaluar los resultados y buscar el tratamiento adecuado.

La concentración del contaminante y el tiempo de exposición a las microondas a la cual se sometió el equipo de ventilación respiratoria se determinó en base a los resultados obtenidos con los controles biológicos, utilizando un tamaño de muestra N=38.

8. RESULTADOS

Para llevar a cabo la presente investigación, se prepararon controles biológicos conteniendo esporas de *Bacillus stearothermophilus* y *Bacillus subtilis* a concentraciones de 10^4 , 10^5 y 10^6 UFC/ml. Tanto los controles biológicos preparados, como los controles biológicos comerciales, fueron sometidos a microondas de 800 watts durante : 5, 10, 15 y 20 minutos.

Se trabajaron unidades experimentales de cinco muestras por concentración y tiempo, exponiendo a las microondas un total de 160 controles biológicos.

En la tabla No. 8.1 encontramos el número de controles biológicos "preparados" con esporas de *B. stearothermophilus* a distintas concentraciones que fueron esterilizados o no, a diferentes tiempos de exposición a las microondas. Observamos que a los 5 minutos de exposición a concentraciones de 10^4 y 10^5 UFC/ml 3 de los 5 controles biológicos logran la esterilización y, a una concentración de 10^6 UFC/ml 2 se esterilizan y 3 no. A los 10 minutos de exposición a las microondas observamos en las diferentes concentraciones que 4 de los controles biológicos fueron esterilizados y 1 no. A los 15 minutos de exposición a concentraciones de 10^4 y 10^5 UFC/ml se alcanzó la esterilización en los 5 controles, sin embargo a la concentración de 10^6 UFC/ml 1 de los 5 controles no completa la esterilización. Finalmente se observa que a los 20 minutos de exposición a las microondas el 100% de los controles biológicos son esterilizados.

En la tabla No. 8.2 encontramos el número de controles biológicos "preparados" con esporas de *B. subtilis* a distintas concentraciones que fueron esterilizados y no, a diferentes tiempos de exposición a las microondas. Como se puede observar, los resultados expresados en esta tabla son muy similares a los resultados descritos para *B. stearothermophilus*, alcanzando el 100% de la esterilización a los 20 minutos de exposición a las microondas.

En cuanto a los controles biológicos "comerciales", la tabla No. 8.3 demuestra una tendencia similar a la de los controles biológicos preparados, alcanzando de igual manera el 100% de la esterilización a los 20 minutos de exposición a las microondas.

Posteriormente, previo a la contaminación del equipo de ventilación respiratoria, se verificó que los componentes del mismo resistieran los 20 minutos de exposición a las microondas sin provocar daños en su estructura y funcionalidad, obteniendo los resultados expuestos en la tabla No. 8.4.

En base a los resultados anteriores se contaminaron 38 segmentos de los tubos corrugados con esporas de *B. stearothermophilus* a una concentración de 10^6 UFC/ml, y posteriormente fueron expuestos a las microondas por un tiempo de 20 minutos. De las 38 muestras, en 26 de ellas (68.42%) se obtuvo crecimiento del bacilo después de la esterilización.

TABLA No. 8.1

NUMERO DE CONTROLES BIOLÓGICOS PREPARADOS CON ESPORAS DE *B. STEAROTHERMOPHILLUS* A DISTINTAS CONCENTRACIONES, ESTERILIZADOS A DIFERENTES TIEMPOS DE EXPOSICIÓN A LAS MICROONDAS

Tiempo de Exposición	10 ⁴ UFC/ml		10 ⁵ UFC/ml		10 ⁸ UFC/ml	
	Estéril	No Estéril	Estéril	No Estéril	Estéril	No Estéril
5 min	3	2	3	2	2	3
10 min	4	1	4	1	4	1
15 min	5	0	5	0	4	4
20 min	5	0	5	0	5	0

TABLA No. 8.2

NUMERO DE CONTROLES BIOLÓGICOS PREPARADOS CON ESPORAS DE *B. SUBTILIS* A DISTINTAS CONCENTRACIONES, ESTERILIZADOS A DIFERENTES TIEMPOS DE EXPOSICIÓN A LAS MICROONDAS

Tiempo de Exposición	10 ⁴ UFC/ml		10 ⁵ UFC/ml		10 ⁶ UFC/ml	
	Estéril	No Estéril	Estéril	No Estéril	Estéril	No Estéril
5 min	4	1	3	2	3	2
10 min	4	1	4	1	4	1
15 min	5	0	5	0	4	1
20 min	5	0	5	0	5	0

TABLA No. 8.3

NUMERO DE CONTROLES BIOLÓGICOS COMERCIALES DE ESPORAS DE *B. STEAROTHERMOPHILLUS* Y *B. SUBTILIS* ESTERILIZADOS A DIFERENTES TIEMPOS DE EXPOSICIÓN A LAS MICROONDAS.

Tiempo Exposición	<i>B. stearothermophilus</i>		<i>B. subtilis</i>	
	Estéril	No Estéril	Estéril	No Estéril
5 min	3	2	4	1
10 min	4	1	4	1
15 min	4	1	5	0
20 min	5	0	5	0

TABLA No. 8.4

DAÑO PRODUCIDO POR LAS MICROONDAS SOBRE LA ESTRUCTURA DEL EQUIPO DE VENTILACION RESPIRATORIA

Componente	Daño visible
* tubos corrugados largos y cortos	NO
*tubos corrugados flexibles	NO
*codos	SI
*boquilla proximal	SI

TABLA No. 8.5

TUBOS CORRUGADOS CONTAMINADOS
CON B. STEAROTHERMOPHILLUS EXPUESTOS A
LAS MICROONDAS

TIEMPO DE EXPOSICION	Tubos Corrugados	
	estéril	no estéril
20 MINUTOS	12	26

9. DISCUSION DE RESULTADOS

Para realizar el presente trabajo, fue utilizado el *Bacillus subtilis* y el *Bacillus stearothermophilus*. A pesar de no ser considerados como patógenos de importancia humana, son las especies de bacterias más aceptadas como indicadores biológicos. Su estado esporulado les confiere más resistencia al calor y a muchos desinfectantes, por lo que su destrucción representa una manera excelente para determinar si la esterilización es eficaz.

En la primera parte de la investigación, se sometieron a las microondas controles biológicos preparados y controles biológicos comerciales con esporas de *B. subtilis* y *B. stearothermophilus*. Con los resultados obtenidos se observó que no existe diferencia significativa entre la esterilización de las esporas de *B. stearothermophilus* y *B. subtilis*, a pesar que en la literatura se reporta que *B. stearothermophilus* es más resistente a las temperaturas elevadas que el *B. subtilis*. Además se demuestra que no existe diferencia significativa en la esterilización entre las concentraciones de 10^4 y 10^5 UFC/ml. No obstante, en algunos casos, se observa más resistencia a una concentración de 10^6 UFC/ml, por lo que se asume que a mayor concentración mayor es la resistencia a la esterilización. También se encontró resistencia de las esporas a períodos de 5, 10 y 15 minutos, logrando el 100% de la esterilización a los 20 minutos de exposición a las microondas.

El mecanismo por el cual las microondas eliminan estos microorganismos no esta completamente comprobado. Algunos investigadores consideran que los efectos letales de las microondas son debidos a la generación del calor, mientras otros consideran que resultan de cambios intracelulares específicamente inducidos por las microondas, como es la inactivación de importantes complejos multienzimáticos (19,20,23). Probablemente, éstos sean el resultado de ambos mecanismos.

Posteriormente se verificó que los componentes del equipo de ventilación respiratoria resistieran los 20 minutos de exposición a las microondas sin provocar daños físicos en su estructura. Se observó que no todo el equipo puede ser expuesto a las microondas, ya que algunos poseen estructuras metálicas que pueden producir daño al horno de microondas. Otros poseen estructuras plásticas que al ser expuestas a las microondas sufren daños físicos, por lo que ya no pueden ser reutilizados. Los tubos

corrugados largos y cortos resistieron los 20 minutos de exposición a las microondas, sin sufrir daños físicos en su estructura, por lo cual fueron contaminados con *B. stearothermophilus* a una concentración de 10^6 UFC/ml (concentración que resultó ser más resistente a las microondas). Posteriormente se lavaron con una solución de ácido acético al 10%, esto se realizó debido a que generalmente este tipo de equipo es previamente lavado con un desinfectante y luego esterilizado, con lo que se logra que las condiciones sean similares a las reales.

Luego los tubos corrugados se envolvieron en el material de empaque, que fue cuidadosamente seleccionado. Posteriormente se expusieron a las microondas por un tiempo de 20 minutos. La presencia de un material absorbente de las microondas fue necesaria para prevenir daño al magnetrón (productor de las ondas) por la reflexión de microondas. Esto es debido a que los tubos forman parte de los materiales transparentes a las microondas, es decir que no absorben las microondas (20,23). El material absorbente que se utilizó fue un recipiente con agua destilada.

De un total de 38 tubos, en 26 de ellos no se logró eliminar totalmente a las esporas, esto puede deberse a: 1) por la estructura corrugada de los tubos las esporas logran protegerse de las microondas, quedando algunas sin ser esterilizadas 2) El mismo material de los tubos podría deflectar las ondas, no llegando así a eliminar las esporas que se encuentren en áreas de mayor dificultad para la esterilización. La literatura reporta que los materiales corrugados han sido siempre un problema para cualquier tipo de esterilización (10,14).

10. CONCLUSIONES

- 10.1 El 100% de los controles biológicos preparados con esporas de *Bacillus subtilis* y *B. stearothermophilus* logran la esterilización a los 20 minutos de exposición a las microondas en un horno de 800 watts (máxima potencia).
- 10.2 El 100% de los controles biológicos comerciales conteniendo esporas de *B. subtilis* y *B. stearothermophilus* logran la esterilización a los 20 minutos de exposición a las microondas.
- 10.3 No existe diferencia significativa entre la esterilización de las esporas de *B. subtilis* y *B. stearothermophilus*.
- 10.4 A mayor concentración de las esporas mayor es la resistencia a la esterilización.
- 10.5 La bolsa plástica para microondas (Reynolds Oven Bags) es el material de empaque más apropiado para la esterilización por microondas.
- 10.6 La esterilización por microondas no fue efectiva para eliminar totalmente las esporas de *B. stearothermophilus* en los tubos corrugados para la ventilación respiratoria, por lo que este método de esterilización no puede ser implementado para este tipo de equipo.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1 El método de esterilización en horno de microondas debe permanecer en el campo de la investigación científica y no ser aplicado en la clínica hasta que se aumenten los conocimientos de su efectividad.
- 11.2 Buscar otras alternativas en la metodología, como por ejemplo el uso de medio acuoso, para esterilizar equipo reusable.
- 11.3 Aunque a simple vista no se observen cambios producidos por las microondas sobre la estructura del equipo, es importante realizar un análisis más completo: la microscopía electrónica puede ser una alternativa.

12. REFERENCIAS

1. Maki DG. Risk Factors for Nosocomial Infection in Intensive care. Arch Intern Med 1989; 149:30-35.
2. Favero SF. Esterilización, Desinfección y Antisepsia en el hospital. p. 172-188. (En Lenette EH, et al. Manual de Microbiología Clínica. 4 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1985. 1408 p).
3. Hughes JM, Jarvis WR. Prevención y Control de Infecciones Hospitalarias. p.136-138 (En Lenette EH, et al. Manual de Microbiología Clínica. 4 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1985. 1408p).
4. Arnow PM, et al. Nosocomial Legionnaires disease caused by aerosolized tap water from respiratory devices. J Infect Dis. 1982; 15:146-160.
5. Hampton AA, Sherertz J. Infecciones en puntos de acceso vasculares en pacientes hospitalizados. Clinicas Quirúrgicas de Centroamérica. 1988; 1:63-77.
6. Nehtar S, et al. Cross Infection with *Streptococcus pneumoniae* through a resuscitaire. Br Med J. 1986; 292:25-26.
7. Blanc VR, et al. The complications of tracheal intubation. 4 ed. New York,USA: Livingstone Inc, 1980. 2570 p. (p. 203-210).
8. Castillo FS. Identificación de germen y su susceptibilidad antimicrobiana en neonatos con intubación endotraqueal y soporte ventilatorio. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Medicina) 1991. 65p.
9. Gennaro A, et al. Remington Farmacia; Esterilización. 17 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1985. 2734p. (p.1955-1973).
10. Ernest RR. Sterilization by Heat; Desinfection, Sterilization and Preservation. Philadelphia: Lec and Febiger, 1982. 1215 p. (481-521).

11. Perkins JJ. Principles and Methods of Sterilization in Health Sciences. American Public Health Association inc. 1989; 51:8-15.
12. United States Pharmacopeia. Sterilization and Sterity Assurance. 16 ed. Washington DC, USA: J.B. Lippincott, 1980. 3456 p. (p. 1347-1353).
13. Brunch CA. Proceedings of the First National Conference on Sterilization Technology. American Public Health Association inc. 1979 ; 27:207-229.
14. Golden DL. Constant Monitoring Guarantees Sterity Hospitals JAHA. 1972; 46:122-124.
15. Sánchez E. Las Microondas. Guatemala: Universidad de San Carlos, ESPEM, Doc. Tec. No. 6, 1993. 8p. (p.7-8).
16. Sánchez E. El Horno de Microondas. Guatemala: Universidad de San Carlos, ESPEM, Doc. Tec. No. 7, 1993. 8p. (5-6).
17. Guapta KC. Microwaves. New Delhi, USA: Wiley Eastern Limited, 1979. 241 p. (p.59-72).
18. Asociation International of Radioprotection. Guidelines on Protection against monitoring radiation. USA: Pergamon Press, 1991. 30 p.
19. Conder GA, Williams JF. The Microwave Oven: A novel means of Decontaminating Parasitological Specimens and Glassware. J Parasitol. 1983, 69:181-185.
20. Young SK, Graves DC, Rhorer MD. Microwave Sterilization of Nitrous Oxide nasal hoods contaminated with virus. Oral Surg Med Oral Pathol. 1985; 60: 581-585.
21. Hampson RK, Medina MA, Olson Ms. The use of Hig Energy-Microwave Irradiation to Inactivate Mitochondrial Enzymes. Anal Biochem. 1982; 123:49-54.

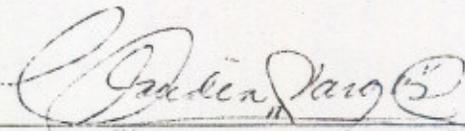
22. Novikoff AB, Holtzman E. Estructura y Dinámica Celular. 2 ed. Madrid: Editora Impor-tecnica, 1978. 1353 p. (p. 380-382).
23. Sifuentes J, Palm A, Ponce S, Gallardo G. Sterilization of Urinary Catheters in Microwave Oven. J Infect Dis. 1987; 98:109-114.
24. Brunch CW. Sterility Assurance: Product Testing Versus Biological Indications. Aust J Pharm Sci. 1973; 11:1-8.
25. Maek TJ. Biological Indicators. Bull Parent Drug Assoc. 1972; 26: 18-23.
26. Halleck FE, Gammon R. Care for Biological Indicators. Mod Health Care. 1974; 1: 74-76.
27. Mayrnick JJ. Indicators for Steam Sterilization. Bull Parent Drug Assoc. 1972; 26:205-211.
28. Finegold SM, Martin WJ. Diagnóstico Microbiológico; *Bacillus*. 6 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1982. 670 p. (P. 299-301).
29. Doyle RJ, Keller KF, Ezzel JW. *Bacillus*. p. 272-278. (En Lenette EH, et al. Manual de Microbiología Clínica. 4 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1985. 1408 p).
30. Koneman EW, et al. Diagnostic Microbiology . 3 ed. Philadelphia: J B Lippincott Company, 1988. 840 p. (p. 356-363).
31. Scott PB. Introducción a la investigación y evaluación educativa. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, 1988. VIII + 147 p. (p. 114-115).

10. A N E X O S

TABLA No. 1
CARACTERISTICAS DEL GENERO BACILLUS

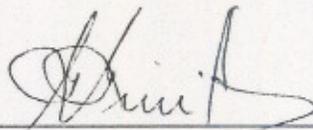
Características	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Vacuola	-	-
Esporo hincha el esporangio	V	-
Movilidad	+	+
Desarrollo Anaeróbico	-	-
Gas de Glucosa	-	-
Arabinosa y Xilosa	V	+
Hidrólisis de Almidon	+	+
VP	-	+
NO ₃ - NO ₂	V	+
Desarrollo en NaCl 7%	-	+
Desarrollo a 50° C.	+	+
Lecitinasa	-	-
Otras Características	Desarrollo a 65° C.	Fermenta manitol Citrato +

Referencia (30).



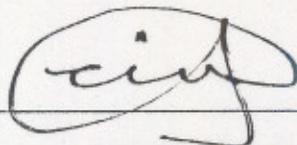
CLAUDIA ELIZABETH VARGAS OLIVA

AUTOR



LIC. GUSTAVO ADOLFO GINI AGUILERA

ASESOR



LIC. GERARDO ARROYO

DIRECTOR



LIC. JORGE PEREZ FOLGAR

DECANO