

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

DETECCIÓN DE BACTERIAS GRAM POSITIVAS EN SUPERFICIES DE GIMNASIOS DE LA CIUDAD DE CUENCA - ECUADOR

PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORAS: KATHERINE GISELA ORTIZ VALLEJO

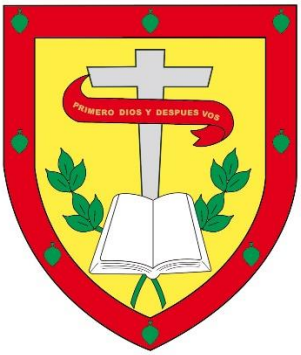
CAMILA ESTEFANIA VIÑANZACA FIGUEROA

DIRECTORA: BQF. ANDREA FERNANDA MACIAS MATAMOROS

CUENCA - ECUADOR

2026

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

DETECCIÓN DE BACTERIAS GRAM POSITIVAS EN SUPERFICIES DE GIMNASIOS DE LA CIUDAD DE CUENCA - ECUADOR

PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORAS: KATHERINE GISELA ORTIZ VALLEJO

CAMILA ESTEFANIA VIÑANZACA FIGUEROA

DIRECTORA: BQF. ANDREA FERNANDA MACIAS MATAMOROS

CUENCA - ECUADOR

2026

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

Universidad Católica de Cuenca

DECLARATORIA DE AUTORÍA Y RESPONSABILIDAD

Declaratoria de Autoría y Responsabilidad

Katherine Gisela Ortiz Vallejo portador(a) de la cédula de ciudadanía Nº **0302506506**. **Camila Estefania Viñanzaca Figueroa** portador(a) de la cédula de ciudadanía Nº **0106750714**. Declaramos ser las autoras de la obra: **"Detección de bacterias Gram positivas en superficies de gimnasios de la ciudad de Cuenca - Ecuador"**, sobre la cual nos hacemos responsables sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaramos que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximimos a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaramos finalmente que nuestra obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también nos responsabilizamos y eximimos a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, **07 de octubre de 2026**

F: .....

Katherine Gisela Ortiz Vallejo

C.I. **0302506506**

F: .....

Camila Estefania Viñanzaca Figueroa

C.I. **0106750714**

Universidad Católica de Cuenca

Certificación del Tutor

BQF. Andrea Fernanda Macias Matamoros, Mgs
DOCENTE DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD.
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA
De mi consideración:

El presente trabajo de titulación denominado **"Detección de bacterias Gram positivas en superficies de gimnasios de la ciudad de Cuenca - Ecuador"**, realizado por **ORTIZ VALLEJO KATHERINE GISELA**, ha sido revisado y orientado durante su ejecución, por lo que certifico que el presente documento, fue desarrollado siguiendo los parámetros del método científico, se sujeta a las normas éticas de investigación, por lo que está expedito para su sustentación.

Cuenca, 1 de septiembre de 2026

Firma .....

BQF. Andrea Fernanda Macias Matamoros, Mgs

C.I.: 0704800796

Certificación del Tutor

BQF. Andrea Fernanda Macias Matamoros, Mgs
DOCENTE DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD.
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA
De mi consideración:

El presente trabajo de titulación denominado **"Detección de bacterias Gram positivas en superficies de gimnasios de la ciudad de Cuenca - Ecuador"**, realizado por **VIÑANZACA FIGUEROA CAMILA ESTEFANIA**, ha sido revisado y orientado durante su ejecución, por lo que certifico que el presente documento, fue desarrollado siguiendo los parámetros del método científico, se sujeta a las normas éticas de investigación, por lo que está expedito para su sustentación.

Cuenca, 1 de septiembre de 2026

Firma .....

BQF. Andrea Fernanda Macias Matamoros, Mgs

C.I.: 0704800796

DEDICATORIA.

Dedico este trabajo con todo mi amor, a mis padres Manuel y Rosa, las personas que más amo en esta vida y quienes han sido mi pilar fundamental, por ser mi luz en los momentos de oscuridad, por creer en mí y por impulsarme a siempre a seguir. Este logro también es de ustedes, porque es el reflejo de todo el esfuerzo, amor y sacrificio que han hecho por mí.

A mis hermanos, Evelyn y Emanuel, por ser la luz de mi vida, por creer en mí y ser mi apoyo incondicional. A mi sobrina María Paula, por llenar mi vida de amor y alegría. A mis abuelitos que, aunque hoy no estén, siempre vivirán en mi corazón y serán parte de este logro. A mis tíos/as y primas, por estar siempre presentes y acompañarme con su cariño. A John, por siempre creer en mí, ser mi soporte y refugio

Dedico este logro con mucho cariño a mis amigas, Camila y Michelle, por acompañarme durante esta etapa, por compartir trabajos, desvelos, alegrías y por convertirse en mi hogar en una ciudad desconocida para mí y hacer mucho más bonito este recorrido.

A mis compañeros de cuatro patas, que compartieron conmigo este camino y hoy viven en mi corazón, y a quienes continúan a mi lado, por formar parte de mí y hacer más llevaderos mis días.

Dedico este logro a quienes de una u otra manera, fueron parte de este recorrido y que dejaron una huella en mí. Gracias por formar parte de mí y de quien soy hoy. Finalmente dedico este logro a aquella Katherine de 5 años, que veía el mundo con ilusión. Si pudiera abrazarla hoy, le contaría que el camino no fue fácil pero que cada esfuerzo valió la pena y que nunca dejamos de luchar por nuestros sueños.

Katherine Ortiz

DEDICATORIA.

Dedico este trabajo, en primer lugar a mis padres Geovani y Julia, por ser mi mayor apoyo y por acompañarme durante cada etapa de mi formación. Gracias por su amor incondicional, por sus consejos y por cada esfuerzo que realizaron para ayudarme a llegar hasta aquí. Este logro también es de ustedes porque detrás de cada paso que he dado siempre ha estado su apoyo, confianza y amor.

A mis hermanos Javier y Cristian por su compañía, gracias por los momentos compartidos, por su apoyo constante durante esta etapa tan importante y por estar presentes a lo largo de este proceso. A mis abuelitos, por su amor, ternura y por ocupar un lugar tan especial en mi vida. Gracias por sus consejos, sus palabras de cariño, por acompañarme con su apoyo y buenos deseos durante esta etapa.

A mis amigas Michelle y Katherine, por su amistad, cariño y por todos los momentos compartidos durante esta etapa. Gracias por estar presentes, por escucharme, apoyarme y acompañarme tanto en los momentos de alegría como en aquellos en los que las cosas se hicieron más difíciles.

Finalmente, me dedico también estas palabras a mí misma, por el esfuerzo, la perseverancia y la fortaleza que me permitieron continuar incluso en aquellos momentos en los que el camino se volvió difícil. Por cada sacrificio, cada desafío superado y por no rendirme ante las dificultades que se presentaron durante esta etapa. Este trabajo representa no solo la culminación de una etapa académica, sino también el resultado de todo lo aprendido, vivido y superado a lo largo de este camino.

Camila Viñanzaca

ARADECIMIENTOS:

Nuestros más sinceros agradecimientos, en primer lugar, a los propietarios de los gimnasios que formaron parte de este estudio, por brindarnos la apertura y permitirnos llevar a cabo el proceso práctico de nuestro trabajo de titulación.

A nuestros padres y hermanos, quienes estuvieron presentes a lo largo de este camino, acompañándonos en cada etapa de este proceso, gracias por ser nuestro apoyo y por ser esa luz que nos impulsó a no rendirnos hasta alcanzar esta meta.

Agradecemos especialmente a Michelle y Santiago, por su amistad, compañerismo y por estar presentes a lo largo de nuestro camino académico y de este proceso de tesis. Gracias por su constante apoyo, su amistad hizo que este camino fuera mucho más especial y llevadero.

A cada uno de los docentes que contribuyeron a nuestra formación académica, por los conocimientos y enseñanzas que nos permitieron crecer tanto profesional como personalmente. De igual manera, agradecemos a los técnicos de laboratorio, quienes siempre estuvieron dispuestos a orientarnos y colaborar con nosotros, durante el desarrollo de este trabajo.

Finalmente, expresamos nuestro más sincero agradecimiento a nuestra tutora de tesis, BQF. Andrea Macías, por acompañarnos durante este proceso. Su compromiso y dedicación fueron fundamentales para orientarnos durante el desarrollo de este trabajo y permitirnos alcanzar esta meta.

Katherine Ortiz y Camila Viñanzaca

RESUMEN

Introducción: Los gimnasios son espacios de uso colectivo caracterizados por el contacto frecuente y directo de la piel con equipos y superficies compartidas, favoreciendo la presencia y transferencia de microorganismos, por lo que su caracterización microbiológica permite generar evidencia relevante para fortalecer las medidas de higiene y desinfección.

Objetivo: Caracterizar bacterias Gram positivas presentes en superficies de uso común de gimnasios de la ciudad de Cuenca, mediante aislamiento e identificación microbiológica.

Metodología: Se realizó un estudio cuantitativo, descriptivo y transversal. Se recolectaron 100 muestras de superficies de contacto frecuente de dos gimnasios mediante hisopado, utilizando caldo tioglicolato para su transporte, posteriormente, se realizó cultivo en agar sangre, tinción de Gram y tres aislamientos sucesivos. De estos, 20 aislamientos representativos fueron identificados mediante espectrometría de masas MALDI-TOF y los datos se analizaron mediante estadística descriptiva.

Resultados: Se observó crecimiento bacteriano en las 100 muestras recolectadas. El 100% presentó bacterias Gram positivas, de 20 aislamientos analizados mediante MALDI-TOF, el 95% correspondió al género *Staphylococcus*, predominando *S. epidermidis* (40%) y *S. aureus* (30%), además de *S. warneri*, *S. capitis*, *S. simulans* y *Enterococcus faecium*

Conclusión: Se evidenció predominio de bacterias Gram positivas, principalmente del género *Staphylococcus*, lo que resalta la importancia de fortalecer las medidas de limpieza, desinfección e higiene en estos establecimientos.

Palabras clave: Gimnasios, Superficies de contacto, Bacterias Gram positivas, Contaminación microbiológica.

ABSTRACT

Introduction: Gyms are communal spaces characterized by frequent and direct skin contact with shared equipment and surfaces, which facilitates the presence and transfer of microorganisms; therefore, their microbiological characterization provides relevant evidence to strengthen hygiene and disinfection measures.

Objective: To characterize Gram-positive bacteria present on commonly used surfaces in gyms in the city of Cuenca through microbiological isolation and identification.

Methodology: A quantitative, descriptive, and cross-sectional study was conducted. A total of 100 samples were collected from frequently touched surfaces in two gyms using swabs and thioglycolate broth for transport. Subsequently, the samples were cultured on blood agar, subjected to Gram staining, and three successive isolations were performed. Of these, 20 representative isolates were identified using MALDI-TOF mass spectrometry, and the data were analyzed using descriptive statistics.

Results: Bacterial growth was observed in all 100 samples collected. All samples (100%) contained Gram-positive bacteria. Of the 20 isolates analyzed by MALDI-TOF, 95% belonged to the genus *Staphylococcus*, with *S. epidermidis* (40%) and *S. aureus* (30%) being the most prevalent, along with *S. warneri, S. capitis*, *S. simulans*, and *Enterococcus faecium*.

Conclusion: A predominance of Gram-positive bacteria, mainly of the genus *Staphylococcus*, was observed, highlighting the importance of strengthening cleaning, disinfections, and hygiene measures in these establishments.

Keywords: Gyms, Contact Surfaces, Gram-Positive Bacteria, Microbiological Contamination.

ABREVIATURAS

Cm: Centímetros

ISO: International Organization for Standardization

MALDI-TOF: Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight.

MINSA: Ministerio de Salud Pública de Perú

°C: Grados Celsius

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN 11

CAPÍTULO I..... 12

PLANTEAMIENTO TEÓRICO 12

I.1.- PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN..... 13

I.2.- JUSTIFICACIÓN 16

I.2.1.- HIPÓTESIS 17

I.3.- OBJETIVOS 17

I.3.1.-Objetivo General:..... 17

I.3.2.-Objetivos Específicos: 17

I.4.- MARCO TEÓRICO 18

I.4.1.- Antecedentes 18

I.4.2.- Marco referencial:..... 20

4.2.1.- FÓMITES..... 20

4.2.1.1.-DEFINICIÓN..... 20

4.2.1.2.- TRANSMISIÓN DE MICROORGANISMOS A TRAVÉS DE FÓMITES 20

4.2.1.3.- CAPACIDAD DE LOS MICROORGANISMOS PARA SOBREVIVIR FUERA DEL HUÉSPED 21

4.2.2.- BACTERIAS GRAM POSITIVAS 21

4.2.2.1.- CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES Y FISIOLÓGICAS..... 21

4.2.2.2.- MORFOLOGÍA Y AGRUPACIÓN MICROSCÓPICA 22

4.2.2.3.- IMPORTANCIA CLÍNICA Y EPIDEMIOLÓGICA..... 23

4.2.3.- BACTERIAS GRAM POSITIVAS DE INTERÉS EN AMBIENTES PÚBLICOS..... 23

4.2.3.1.- ESTAFILOCOCOS 23

4.2.3.2.- ESTREPTOCOCOS 24

4.2.3.3.- ENTEROCOCOS 25

4.2.4.- SUPERFICIES COMO RESERVORIOS BACTERIANOS 26

4.2.4.1.- TIPOS DE SUPERFICIES MÁS CONTAMINADAS EN GIMNASIOS 27

4.2.4.2.- FACTORES QUE FAVORECEN A LA CONTAMINACIÓN 28

4.2.4.3.- SUPERFICIES Y OBJETOS DE ALTO CONTACTO 29

4.2.5.- MÉTODOS DE MUESTREO MICROBIOLÓGICO EN SUPERFICIES 30

4.2.5.1.- TIPOS DE MUESTREO 30

4.2.5.2.- MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS PARA BACTERIAS GRAM POSITIVAS 31

4.2.6.- MÉTODO DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA 32

4.2.6.1.- TINCIÓN DE GRAM 33

- FUNDAMENTO 34
- VENTAJAS 34
- LIMITACIONES 35

4.2.6.2.- TÉCNICA DE MALDI-TOF 35

- FUNDAMENTO 36
- VENTAJAS 36
- LIMITACIONES 37

4.2.7.- CONTROL Y PREVENCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA 37

4.2.7.1.- PROTOCOLOS DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN EN GIMNASIOS 38

4.2.7.2.- ROL DEL PERSONAL Y USUARIOS 39
4.2.7.3.- MONITOREO MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIES 40
CAPÍTULO II..... 41
METODOLOGÍA..... 41
II.1.- Diseño de investigación. 42
II.2.- Población y muestra. 42
II.2.1.- Universo - Población: 42
II.2.2.- Muestreo y muestra..... 42
II.2.2.1. Muestreo 42
II.2.2.2. Muestra 42
II.3.- Criterios de selección..... 42
II.3.1. Criterios de inclusión 42
II.3.2. Criterios de exclusión 43
II.4.- Definición y clasificación de las variables 43
II.5.- Procedimientos, técnicas e instrumentos para la obtención de datos .. 44
II.5.1. Preparación de medios de cultivos 45
II.5.2. Toma de muestra..... 45
II.5.3 Siembra y aislamientos..... 45
II.5.4 Técnica de MALDI-TOF..... 46
II.5.5 Procedimientos estadísticos y análisis de datos 46
II.6.- Aspectos éticos 46
CAPÍTULO III..... 46
RESULTADOS Y DISCUSIÓN 46
III.1.- RESULTADOS 47

III.1.- Crecimiento Bacteriano y Aislamiento de Colonias 47

III.2.- Tinción de Gram 48

III.3.- Técnica de MALDI-TOF 49

III.2.- DISCUSIÓN 53

CAPÍTULO IV 57

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 57

IV.1.- CONCLUSIONES 58

IV.2.- RECOMENDACIONES 60

BIBLIOGRAFÍA 61

ANEXOS 67

I. INTRODUCCIÓN

La actividad física se considera uno de los pilares fundamentales de un estilo de vida saludable. El ejercicio ayuda a prevenir el sobrepeso, la inflamación sistémica y diversas enfermedades crónicas. Además, puede reducir el riesgo de contraer enfermedades transmisibles, incluidas las de origen viral. Entre los espacios destinados a la práctica de ejercicios físicos se encuentran los gimnasios, donde las personas realizan rutinas con el objetivo de mejorar su condición física (1,2).

En los últimos años, los gimnasios en Ecuador han experimentado un crecimiento notable. Aproximadamente el 10.46% de los ecuatorianos realiza ejercicio o deporte en su tiempo libre, de los cuales cerca de 256 mil están inscritos en un gimnasio del país. Este incremento evidencia que cada vez más personas adoptan estilos de vida más saludables y utilizan estos espacios con mayor frecuencia (3). Los gimnasios constituyen ambientes de uso compartido donde un gran número de personas entra en contacto constante con superficies de equipos de uso frecuente. El contacto continuo con estas superficies, junto con factores como la humedad y la acumulación de sudor, puede favorecer la permanencia temporal y la transmisión de diversos microorganismos con potencial patógeno.

En consecuencia, las infecciones bacterianas representan un problema relevante para la salud pública, debido a que pueden transmitirse mediante diversas vías. Si bien una parte de estas infecciones se adquieren en centros de salud, muchas también pueden transmitirse en espacios públicos mediante el contacto directo entre personas o de forma indirecta a través de superficies contaminadas (4). En este contexto, las superficies de los gimnasios adquieren gran importancia desde el punto de vista microbiológico, ya que pueden actuar como reservorios temporales de diversos microorganismos.

En estos espacios, una de las vías más frecuentes de transmisión de las infecciones bacterianas es a través del contacto directo entre la piel con las superficies de los equipos utilizados durante el entrenamiento. La piel alberga una variedad de microorganismos que se forman mediante la interacción entre el huésped y los microorganismos. Entre ellos, *Staphylococcus aureus* constituye uno de los

microorganismos de mayor importancia clínica, ya que puede encontrarse como parte de la microbiota cutánea y colonizar diferentes regiones del cuerpo. Sus principales reservorios se localizan en un 35% en el vestíbulo nasal, en la región perineal un 20% y en otras zonas como las uñas y el cuero cabelludo en un 5% a 10%. (1,5).

Considerando el incremento en la asistencia a gimnasios y el uso compartido de equipos, resulta importante conocer la presencia de bacterias Gram positivas en las superficies de contacto frecuente de estos establecimientos. La detección de estos microorganismos generará evidencia útil para fortalecer las medidas de higiene, limpieza y desinfección, así como promover estrategias preventivas orientadas a disminuir el riesgo de transmisión bacteriana y proteger la salud de los usuarios. En este contexto, el objetivo de la presente investigación fue detectar bacterias Gram positivas en superficies de uso común de gimnasios de la ciudad de Cuenca Ecuador, con el fin de aportar información que contribuya al fortalecimiento de las medidas de higiene y prevención en estos establecimientos.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO TEÓRICO

I.1.- PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.

- **Situación problemática:** En los últimos años, el interés por mantener un estilo de vida saludable a nivel físico y emocional aumentó significativamente, lo que generó un incremento en la asistencia de personas a gimnasios y centros dedicados a la actividad física, estos espacios se convirtieron en lugares ampliamente frecuentados, sin embargo, al visitar estos establecimientos en donde el uso de los distintos equipos y máquinas es compartido con múltiples usuarios, las personas se han expuesto al contacto directo con múltiples microorganismos presentes en las superficies de uso común de los gimnasios (5,6).

  Dentro de las áreas de Microbiología y Salud Pública la identificación y el estudio de distintos microorganismos como las bacterias Gram positivas, han constituido un aspecto clave ya que estas áreas han permitido comprender los mecanismos de transmisión, evaluar riesgos microbiológicos y desarrollar estrategias de control y prevención de distintas infecciones bacterianas. En este contexto, algunos estudios anteriores han caracterizado a los gimnasios como posibles reservorios de microorganismos potencialmente patógenos, asimismo, la exposición frecuente a los equipos de los gimnasios sin una limpieza y desinfección adecuada han representado un riesgo de exposición alto en personas más susceptibles o inmunosuprimidas (7–9).

  El contacto directo de la piel con máquinas, colchonetas, pesas, entre otros implementos, utilizados durante la actividad física, representó una de las principales vías para la transmisión bacteriana, entre los microorganismos de mayor relevancia están las bacterias Gram positivas, particularmente aquellas que están asociadas a la microbiota normal de la piel como las del género de *Staphylococcus*, que tienen como principales reservorios el vestíbulo nasal entre un 35% y otras zonas como las uñas y el cuero

cabelludo, entre un 5% y 10%. Desde estos sitios, puede diseminarse y causar diversas enfermedades, que van desde infecciones leves de la piel y tejidos blandos hasta afecciones graves y potencialmente mortales, como sepsis, endocarditis infecciosa o síndrome de shock tóxico (1,5,9,10).

A nivel mundial algunos estudios han reportado la presencia de bacterias Gram positivas en superficies de espacios públicos, incluyendo espacios deportivos y muchas de estas bacterias que se han encontrado están relacionadas a infecciones cutáneas, respiratorias o sistémicas. En América Latina, también se han desarrollado este tipo de investigaciones en donde también se determinó que a estos espacios compartidos se les ha considerado reservorios de microorganismos patógenos, capaces de transmitir bacterias de persona a persona a través del contacto directo con superficies (8,11).

En el contexto local ecuatoriano y específicamente en la ciudad de Cuenca, el crecimiento de números de gimnasio ha sido bastante alto al igual que la toma de conciencia de la población acerca de la importancia de la actividad física. Esto ha incrementado la asistencia de personas a estos establecimientos, sin embargo la evidencia científica acerca de la presencia de bacterias en superficies de gimnasios ha sido limitada, lo que ha impedido la disponibilidad de información microbiológica para evaluar el riesgo de transmisión bacteriana en los gimnasios (12,13).

Por lo tanto la identificación y el análisis de bacterias Gram positivas presentes en las superficies de los gimnasios resulta ser un tema relevante de salud pública, debido a que estos microorganismos pueden causar un impacto significativo en la salud de la población a nivel mundial (14–16).

- **Problema de investigación:** En la ciudad de Cuenca la asistencia a gimnasios ha crecido considerablemente en los últimos años, sin embargo

la falta de estudios sobre la presencia de bacterias Gram positivas en las superficies compartidas de estos establecimientos y la limitada evidencia de los gimnasios como posibles focos de transmisión bacteriana constituyen un obstáculo para evaluar y gestionar el riesgo microbiológico.

El estado actual de esta ciudad se caracteriza por la escasez de datos científicos sobre la transmisión bacteriana en gimnasios dificultando la implementación de estrategias de prevención y control en estos entornos, por otro lado, el estado deseado es disponer de información microbiológica local y actualizada sobre la presencia y caracterización de bacterias Gram positivas en superficies de uso común de los gimnasios, que permita fortalecer las medidas de higiene y desinfección para reducir el riesgo de transmisión bacteriana y así proteger la salud de los usuarios.

En consecuencia, surge la contradicción científica entre el estado actual que es la falta de información local sobre la presencia de bacterias Gram positivas en superficies de uso común de gimnasios y el estado deseado, que consiste en disponer de evidencia científica que permita identificar estos microorganismos y aportar información sobre el riesgo microbiológico que puede existir en estos establecimientos.

I.2.- JUSTIFICACIÓN

La detección de bacterias Gram positivas en las superficies de uso común de los gimnasios, permitirá identificar áreas más propensas a la proliferación bacteriana, esta identificación será clave para evaluar la eficacia de los protocolos de limpieza empleados en estos lugares, de modo que también ayudará a determinar si se está garantizando un ambiente seguro para los usuarios que frecuentan estos lugares. A través del uso de las distintas técnicas de espectrometría de masas y de tinción bacteriana, se podrá identificar y caracterizar las distintas especies bacterianas presentes en estos espacios, lo que permitirá evaluar el grado de patogenicidad de estas especies y su impacto a nivel de salud pública y al estado de salud de los usuarios que asistan a los gimnasios. Este estudio resulta ser bastante relevante y novedoso ya que no existen antecedentes ni investigaciones recientes sobre este tema dentro del contexto local, además de contribuir a la prevención de enfermedades infecciosas causadas por microorganismo bacterianos patógenos, la información científica obtenida buscará generar conciencia entre usuarios, entrenadores y administradores de los distintos gimnasios sobre la necesidad de mantener protocolos de higiene efectivos y eficaces. Así mismo esta investigación se relaciona con las líneas de investigación orientadas a salud pública y microbiología contribuyendo al desarrollo científico y a la generación de información útil para futuras investigaciones. Finalmente, los resultados de esta investigación podrán servir como base para el diseño de programas de desinfección que contribuyan a reducir la exposición a posibles patógenos, disminuyendo así el riesgo de infecciones bacterianas en ambientes deportivos.

I.2.1.- HIPÓTESIS

Las superficies de contacto frecuente en los gimnasios presentan una carga microbiana significativa de bacterias Gram positivas, debido a prácticas inadecuadas o insuficientes de limpieza y desinfección, esta contaminación microbiológica podría incrementar el riesgo de transmisión de infecciones cutáneas entre los usuarios, especialmente en condiciones de alta humedad y calor, que favorecen la supervivencia de estos microorganismos.

I.3.- OBJETIVOS

I.3.1.-Objetivo General:

Caracterizar bacterias Gram positivas presentes en superficies de uso común dentro de gimnasios de la ciudad de Cuenca, mediante aislamiento e identificación microbiológica con el fin de evaluar su relevancia sanitaria y generar evidencia que contribuya al fortalecimiento de las medidas de higiene en estos espacios.

I.3.2.-Objetivos Específicos:

- Realizar el muestreo de superficies de uso común en gimnasios de la ciudad de Cuenca, mediante la técnica de hisopado.
- Realizar el aislamiento de bacterias a partir de las muestras recolectadas mediante la siembra en agar sangre, para la obtención de colonias aisladas/puras para su posterior análisis.
- Determinar las características microscópicas de las colonias aisladas seleccionadas, mediante la técnica de tinción de Gram para su clasificación/clasificarlas según su morfología y estructura celular.
- Identificar el género y la especie de las bacterias aisladas seleccionadas, mediante la técnica de espectrometría de masas por desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI-TOF).

- Analizar la relevancia sanitaria de las bacterias Gram positivas identificadas con base en evidencia científica actual.

I.4.- MARCO TEÓRICO

I.4.1.- Antecedentes:

Desde el 2018, en el Ecuador se ha evidenciado un notable interés por la vida fitness, debido a que las personas optan por tener de un estilo de vida saludable, motivado por el deseo de mejorar o mantener una buena condición física, la cual a menudo está relacionada con la búsqueda de aceptación social. Además, el gimnasio ha pasado a convertirse en un nuevo espacio para la interacción social y otros factores que impulsan a mantener un estilo de vida enfocado en el bienestar físico (17,18).

Sin embargo, este incremento puede generar un ambiente más propenso a la proliferación de microorganismos, especialmente si no se mantiene adecuadas condiciones de higiene en los espacios y equipos compartidos. U. S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), señala que bacterias como *Staphyloccus aureus*, incluyendo sepas resistentes a la meticilina (MRSA), puede propagarse en instalaciones deportivas debido al uso compartido de equipos y al contacto cercano piel con piel (19).

Esta preocupación ha sido evidenciada en diferentes investigaciones desarrolladas a nivel internacional. Un estudio realizado en 16 gimnasios del noreste de Ohio, Estados Unidos, reveló que el 38.2% de las superficies ambientales analizadas estaban contaminadas con *Staphylococcus aureus*¸ una bacteria Gram positiva comúnmente presente en la nariz y garganta, potencialmente patógena en ciertos contextos. Asimismo, en Malasia se analizaron 42 muestras obtenida de diferentes equipos de tres gimnasios y se encontró que el 73.8% fueron positivas para *Staphylococcus aureus* (20,21).

En Brasil también se han desarrollado varias investigaciones que evidencian la presencia de este microorganismo en superficies de gimnasios. En un gimnasio de

una academia de la ciudad de Alfenas se recolectaron 54 muestras en tres periodos distintos de diferentes equipos. Reportaron crecimiento bacteriano en un 53.70% de las muestras analizadas encontrándose un predominio de bacterias Gram positivas, confirmando nuevamente la presencia de *Staphylococcus aureus* (1).

De forma complementaria, otra investigación realizada en una institución de educación superior evaluó diez equipos antes y después de la desinfección con alcohol al 70%. Los resultados mostraron que las superficies analizadas presentaban contaminación bacteriana antes de la limpieza. La tinción de Gram reveló un predominio de bacterias Gram positivas como morfologías de cocos aislados, diplococos, estafilococos y estreptococos, lo cuales fueron indicativos de la presencia de *Staphylococcus spp*. Asimismo, la mayoría de los aislados resultó positiva para la prueba de catalasa, para la confirmación de la especie, las cepas catalasa positiva fueron cultivadas en Agar manitol, resultando positiva para *Staphylococcus aureus*. Aunque el uso de alcohol al 70% disminuyó el crecimiento bacteriano, aún se observó desarrollo bacteriano en algunas muestras después de la desinfección (22).

Resultados similares fueron reportados en otro estudio desarrollado en dos gimnasios de la ciudad de Três Corações, donde se evaluó la efectividad del alcohol al 70% empleado habitualmente para la limpieza de equipos. Los resultados evidenciaron un crecimiento bacteriano del 87,5% con una alta frecuencia de bacterias Gram positivas y catalasa positivas en las superficies de los equipos de ambas academias. Aunque la desinfección con alcohol redujo la presencia bacteriana en algunas muestras, esta no fue suficiente para eliminar completamente los microorganismos (23)

Por último, otro estudio realizado en Pouso Alegre, Brasil, se analizó la presencia de *Staphylococcus aureus* en siete equipos de un centro deportivo. Para ello recolectaron tres muestras de cada aparato en tres días distintos, alcanzando 21 muestras diarias y un total de 63 muestras analizadas. Detectaron bacterias del género *Staphylococcus* en todos los equipos, mientras que la especie *Staphylococcus aureus* fue detectada en cinco de ellos (24).

En conjunto, estos estudios coinciden en que las superficies de los equipos de los gimnasios pueden actuar como reservorios de microrganismo, con un predominio de bacterias del género *Staphylococcus*. Asimismo, los autores concluyen que la desinfección de los equipos, aunque reduce la carga microbiana, se debe complementar con otras medidas de prevención e higiene.

A pesar de estas evidencias internacionales, en el contexto nacional, en Ecuador no se han identificado estudios específicos que analicen la presencia de bacterias en superficies de gimnasios. Esta ausencia de información pone en necesidad de investigaciones locales que permitan conocer el nivel de riesgo microbiológico presente en estos espacios y establecer medidas de prevención adecuadas para proteger la salud de los usuarios.

I.4.2.- Marco referencial:

4.2.1.- FÓMITES

4.2.1.1.-DEFINICIÓN

Un fómite es un objeto inanimado que puede actuar como vehículo para la transmisión de agentes infecciosos. Desempeñan un papel importante en la transmisión indirecta de enfermedades, principalmente en entornos en donde el contacto humano con distintas superficies es constante. Los microorganismos que se encuentran con mayor frecuencia son las bacterias, cuya presencia es habitual en establecimientos de atención sanitaria, espacios públicos, gimnasios y hogares (25,26).

4.2.1.2.- TRANSMISIÓN DE MICROORGANISMOS A TRAVÉS DE FÓMITES

El papel de los fómites como vehículos de transmisión de enfermedades tuvo relevancia durante la pandemia por COVID-19, evidenciando la importancia de analizar de como la contaminación ambiental contribuye a la propagación de

microorganismos. Las bacterias patógenas se pueden depositar sobre objetos inanimados mediante secreciones respiratorias, el contacto de la piel o de fluidos corporales. Una vez depositados, algunos microrganismos pueden sobrevivir por lapsos de tiempos prolongados y pueden infectar a nuevos huéspedes cuando estos manipulan dichas superficies y posteriormente se tocan las mucosas o presentan heridas abiertas en la piel. En un gimnasio, este mecanismo puede darse cuando una persona portadora utiliza un equipo, lo contamina con bacterias y no realiza un desinfección adecuada antes de que otro usuario lo emplee (9,26).

4.2.1.3.- CAPACIDAD DE LOS MICROORGANISMOS PARA SOBREVIVIR FUERA DEL HUÉSPED

Las bacterias tienen un tamaño de 0.2 a 5 µm, una de sus características más relevantes es su capacidad de sobrevivir fuera del huésped y a condiciones ambientales adversas. Pueden mantenerse viables e incluso proliferar en determinadas circunstancias, por ejemplo, a temperaturas extremas, ambientes secos, baja disponibilidad de nutrientes y variaciones de la presión osmótica que resultarían perjudicial para muchas células eucariotas (27,28).

Se ha demostrado que los microorganismos pueden subsistir durante periodos prolongados en superficies secas, en el caso de las bacterias Gram positivas, su resistencia se asocia con su pared celular, la cuál es rica en peptiglucano y la ausencia de una membrana externa. Estas características estructurales favorecen a la supervivencia en fómites, sin embargo, el tiempo de permanencia en estas superficies varía según el tipo de microorganismos, el material implicado y las condiciones ambientales presentes (26).

4.2.2.- BACTERIAS GRAM POSITIVAS

4.2.2.1.- CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES Y FISIOLÓGICAS

Las bacterias Gram positivas se caracterizan principalmente por poseer una pared celular grande de aproximadamente 25 nm. Esta estructura está constituida por una

capa gruesa de peptidoglicanos, la cual integra dos componentes únicos en este tipo de bacterias. Los ácidos teicoicos, constituidos por cadenas de glicerol o ribitol unidos a grupos fosfatos. Cuando estos polímeros se encuentran anclados a lípidos de la membrana citoplasmática, reciben el nombre de ácidos lipoteicoicos. Debido a su naturaleza, estas moléculas aportan una carga negativa a la superficie bacteriana, actúan como adhesinas y son potentes estimuladores de la respuesta inmune. Cabe destacar que este grupo carece de membrana externa, lipopolisacáridos y espacio periplásmico (29).

Algunas de las toxinas bacterianas de mayor relevancia incluyen a la toxina diftérica, su mecanismo de acción es inhibir la síntesis de proteínas mediante la inactivación del factor de elongación 2. También se encuentran la toxina tetánica y la toxina botulínica, ambas neurotoxinas que evitan la liberación de neurotransmisores. Por último, la toxina responsable del síndrome de shock tóxico, el cual actúa como un superantígeno, estimulando la liberación masiva de citocinas por parte de linfocitos T auxiliares y macrófagos (27).

4.2.2.2.- MORFOLOGÍA Y AGRUPACIÓN MICROSCÓPICA

Desde el punto de vista morfológico, se observa una ampla diversidad en la forma y el tipo o modo de agrupación, características esenciales para la identificación microscópica y la diferenciación taxonómica. En cuanto a la forma, pueden distinguirse células esféricas u ovalada, denominadas cocos; formas cilíndricas o en bastón conocidas como bacilos; estructuras helicoidales o espiral llamadas espirilos y formas filamentosas. Existen además formas intermedias, los cocobacilos y vibriones, cuya forma es curva o ligeramente alargada y en algunos casos puede adquirir un aspecto algo retorcido (29).

En relación a la agrupación, no todas las especies bacterianas se agrupan. En las formas cocoideas se identifican diplococos (en pares), estreptococos (en cadenas, tétradas o tetracocos (grupo de 4 células), estafilococos (en racimos) y sarcinas (agrupaciones cuboidales de 8 o más coco). Las agrupaciones bacilares con menos

frecuentes, aunque pueden observarse diplobacilos o estreptobacilos. En ciertas especies, se puede observar una disposición irregular similar a letras chinas (29).

4.2.2.3.- IMPORTANCIA CLÍNICA Y EPIDEMIOLÓGICA

La microbiota normal en los seres humanos es abundante que en condiciones normales no provoca enfermedad, si no que se mantiene un equilibrio que favorece la supervivencia, crecimiento y la multiplicación tanto de las bacterias como del hospedador. No obstante, ciertas bacterias reconocidas como patógenas pueden permanecer en el individuo sin generar manifestaciones clínicas evidentes, cuando la infección cruza de forma asintomática o con síntomas leves, en lugar de ocasionar la muerte del hospedador, se incremente la probabilidad de transmisión entre individuos (30).

Las infecciones bacterianas representan un problema relevante para la salud pública. Una de las transmisiones más frecuentes es de persona a persona a través de las manos, por lo que la higiene adecuada es una pieza fundamental para el control de infecciones. Las principales vías de entrada de las bacterias patógenas son las zonas donde las mucosas se unen con la piel, como el aparato respiratorio, el tracto gastrointestinal, especialmente la cavidad oral y el sistema genitourinario. En heridas, quemaduras u otras lesiones también facilitan la entrada microbiana. En condiciones normales, la piel y las mucosas actúa como defensa de primera línea frente a las infecciones, barrera que los microrganismos deben vencer para desencadenar una enfermedad (30).

4.2.3.- BACTERIAS GRAM POSITIVAS DE INTERÉS EN AMBIENTES PÚBLICOS

4.2.3.1.- ESTAFILOCOCOS

Este género bacteriano está constituido por cocos Gram positivos de morfología esférica, agrupados en disposiciones irregulares semejantes a racimos. Son bacterias anaerobias facultativas, capaces de desarrollarse en medios con

concentraciones elevadas de sal y a temperaturas entre los 18 °C y 40 °C. Están presentes en la piel y las mucosas, y se han descrito más de 35 especies y 17 subespecies. Entre las especies de mayor relevancia clínica se encuentran *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis* y *Staphylococcus saprophyticus* (27,28).

Staphylococcus aureus puede encontrarse mayormente en la mucosa nasal y en menor proporción en la piel, especialmente en el personal sanitario y pacientes hospitalizados. Por su parte, *Staphylococcus epidermis* predomina en la piel normal y en las membranas mucosas, mientras que *Staphylococcus saprophyticus* se localiza con mayor frecuencia en la piel que rodea el aparato genitourinario (27,28).

Desde el punto de vista clínico, los estafilococos constituyen uno de los grupos patógenos más importante en el ser humano, ya que pueden originar infecciones cutáneas, de tejidos blandos, de los huesos, del aparato genitourinario y cuadros sistémicos potencialmente graves. Aunque son sensibles a temperaturas elevadas y a múltiples desinfectantes y antisépticos, pueden sobrevivir durante períodos prolongados en superficies secas, lo que favorece su transmisión por contacto directo o a través objetos contaminados (fómites) (27,28).

4.2.3.2.- ESTREPTOCOCOS

Cocos Gram positivos típicamente agrupados en cadenas o pares. La mayoría de las especies son anaerobias facultativas y algunas requieren una atmósfera enriquecida con dióxido de carbono para un crecimiento óptimo. Un criterio fundamental para su clasificación es el patrón de hemólisis observado en agar sangre. Los estreptococos α-hemolíticos producen una lisis incompleta de los glóbulos rojos lo que genera una coloración verdosa alrededor de las colonias. Los β-hemolíticos forman un halo transparente al producir una lisis completa de los glóbulos rojos. Finalmente, existen especies no hemolíticas (γ-hemólisis), en donde no se observa alguna alteración visible en el medio (27,28).

Diversas especies forman parte normal de la microbiota del tracto respiratorio superior, la piel y de los intestinos de los seres humanos, esta colonización suele ser asintomática, pero pueden producir enfermedades cuando invaden tejidos profundos o el torrente sanguíneo. El grupo viridans y *Streptococcus pneumoniae* se encuentran principalmente en la orofaringe, *Streptococcus pyogenes* se localiza en la piel y en menor cantidad en la orofaringe, por último, el *Streptococcus agalactiae* puede estar presente en la vagina y el colon (27).

Streptococcus pyogenes, tiene la capacidad de sobrevivir durante períodos prolongados en superficies secas, lo que contribuye a su propagación. Su transmisión ocurre principalmente de persona a persona mediante gotículas respiratorias, especialmente en casos de faringitis. También puede diseminarse a través de heridas cutáneas después del contacto directo con in individuo infectado o con un fómite. Aunque menos frecuentes, puede transmitirse por un vector como los artrópodos (28).

4.2.3.3.- ENTEROCOCOS

Los enterococos son cocos Gram positivos agrupados en pares o en cadenas cortas. Son anaerobios facultativos, presentan una temperatura óptima de crecimiento de 35 °C, aunque la mayor parte de las cepas pueden crecer en una temperatura de entre 10 °C y 45 °C. Comprende aproximadamente de 29 especies, entre ellas las de mayor frecuencia y relevancia clínica son *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*, responsables de la mayoría de infecciones humanas (28).

Son bacterias que forman parte de la microbiota intestinal normal del ser humano y de diversos animales. En condiciones normales poseen una limitada virulencia, ya que no producen toxinas potentes. Sin embargo, en el ámbito hospitalario se han convertido en patógenos de importancia (28).

Colonizan principalmente el tracto gastrointestinal y pueden diseminarse hacia otras mucosas si los antibióticos de amplio espectro eliminan la población bacteriana normal. Pueden sobrevivir a superficies inanimadas durante periodos prolongados

gracias a la estructura de su pared celular. Se puede transmitir de persona a persona ya sea mediante las manos contaminadas, a través de fómites o por el consumo de agua o alimentos contaminados (28).

4.2.4.- SUPERFICIES COMO RESERVORIOS BACTERIANOS

Las superficies inertes de los distintos espacios públicos se constituyen como reservorios de microorganismos potencialmente patógenos especialmente en ambientes cerrados, los principales factores que están asociados a la contaminación microbiana de superficies depende principalmente de factores como la frecuencia de uso, el tipo de material, condiciones de humedad, temperatura ambiental y las prácticas de limpieza y desinfección implementadas en el lugar, además el número de usuarios que frecuentan el lugar también juegan un papel importante en la calidad del aire dentro de estos espacios (31–33).

Dentro del contexto microbiológico las bacterias Gram positivas se caracterizan por poseer una pared celular gruesa rica en peptidoglicano lo que les otorga mayor resistencia a ciertas condiciones ambientales adversas, permitiéndoles sobrevivir durante largos periodos en superficies de uso común. Entre las bacterias Gram positivas con mayor capacidad de supervivencia ambiental destacan especies del género *Staphylococcus*, entre otras, estos microorganismos están asociados a infecciones oportunistas y contaminación de ambientes compartidos (5,20,34,35).

Considerando esto, los gimnasios al ser espacios públicos de uso compartido se representan como espacios ambientales favorables para la proliferación bacteriana, ya que durante la actividad física el aumento de la sudoración y el contacto directo de la piel con equipos compartidos facilitan la contaminación en las superficies deportivas (5,35).

De igual manera, investigaciones confirman e indican que la microbiota humana también se constituye una de las principales fuentes de contaminación de superficies, ya que las bacterias provenientes de la piel, fosas nasales y manos son transferidas continuamente hacia objetos compartidos mediante contacto directo,

principalmente hay prevalencia de *Staphylococcus aureus* y otros cocos grampositivos en instalaciones públicas y universitarias que son espacios públicos y de uso frecuente (35,36).

El riesgo sanitario de las superficies contaminadas se debe a que estas pueden facilitar la transmisión de microorganismos de un individuo a otro debido a uso compartido de las superficies, aunque no siempre la transmisión bacteriana conlleva a infecciones graves pero si se incrementa el riesgo de colonización bacteriana, sobre todo quienes presentan lesiones cutáneas, o en personas inmunocomprometidas. Por ello la vigilancia microbiológica de superficies no solo ayuda a identificar riesgos sanitarios sino también ayuda a fortalecer las medidas de seguridad y proteger la salud de todas las personas que usan estos espacios.

4.2.4.1.- TIPOS DE SUPERFICIES MÁS CONTAMINADAS EN GIMNASIOS

Las investigaciones microbiológicas que se han desarrollado en centros deportivos y distintos gimnasios a nivel mundial, han identificado que no todas las superficies presentan el mismo nivel de contaminación bacteriana, ya que esta depende de la frecuencia de contacto, la acumulación de humedad y el estado de limpieza y desinfección (5).

Entre las superficies más contaminadas están las mancuernas, barras, máquinas de musculación, bancos de entrenamiento, colchonetas y agarraderas metálicas, que es en donde se encontraron una mayor concentración de bacterias Gram positivas identificándose especies principalmente *Staphylococcus* (5).

Las colchonetas representan una superficie crítica debido a su contacto directo con la piel y su capacidad para retener humedad, su material poroso favorece la adherencia de las bacterias dificultando la eliminación completa de microorganismos mediante limpieza y ocurre lo mismo con los equipos recubiertos con materiales de espuma o goma ya que de igual manera estos tienden a acumular sudor proporcionando un ambiente apto para el crecimiento bacteriano (20,36).

En cuanto a los vestidores, casilleros y pisos de áreas húmedas también presentan ciertos niveles de contaminación microbiana debido a la humedad persistente y al uso constante de usuarios (37).

4.2.4.2.- FACTORES QUE FAVORECEN A LA CONTAMINACIÓN

La contaminación bacteriana de superficies en gimnasios es el resultado de una interacción de factores del entorno, personas y materiales de las superficies, considerando que los gimnasios son lugares de alta afluencia de personas y estas a su vez hacen uso de los mismo equipos, y además sudor y humedad en el ambiente crea un escenario adecuado para el crecimiento microbiano

El tipo de material de estas superficies compartidas es clave ya que aquellas de material rugoso o porosas favorecen la acumulación de microorganismos, allí estas estructuras permiten que las bacterias desarrollen mecanismos de protección frente las técnicas de limpieza y a los agentes desinfectantes. Por otro lado, las superficies lisas y de material no poroso tienen menor capacidad de retención microbiana, pero también pueden llegar a contaminarse cuando el contacto es constante y no se realiza una limpieza adecuada (8,20,38)

La humedad constituye otro factor determinante, ya que durante el ejercicio, la sudoración incrementa la humedad superficial de equipos generando condiciones favorables para la supervivencia de bacterias como las Gram positivas y variables ambientales como ventilación deficiente, el exceso de humedad y alta concentración de personas en los gimnasios aumentan la contaminación microbiana (20).

Pero sin duda el contacto humano representa la principal fuente de transferencia bacteriana hacia las superficie, la piel puede llegar a depositar microorganismos ya sea a través de las manos o a través de secreciones como el sudor, ya que se ha demostrado que la mayoría de bacterias presentes en los gimnasios provienen de la microbiota cutánea dominando las superficies de uso colectivo (35,36).

Adicionalmente, se considera también la limpieza y desinfección, ya que cuando estas son deficientes, los microorganismos tienden a acumularse progresivamente,

y algunas cepas como las de *Staphylococcus aureus* han mostrado incluso resistencia parcial a determinados desinfectantes lo que refuerza la necesidad de incrementar y reforzar los protocolos estrictos de higiene.

En consecuencia, la contaminación bacteriana en gimnasios debe entenderse como un fenómeno en el que influyen diversos factores al mismo tiempo, entre ellos están las condiciones ambientales, las características físicas de las superficies y la interacción de las personas dentro de estos espacios (39).

4.2.4.3.- SUPERFICIES Y OBJETOS DE ALTO CONTACTO

En los gimnasios y centros de actividad física, los objetos de contacto frecuente se constituyen como los principales puntos de acumulación y transmisión de bacterias ya que a lo largo de la jornada son utilizados por muchas personas, por ende estas superficies son consideradas críticas ya que funcionan como intermediarias en la transmisión indirecta de microorganismos potencialmente patógenos (5).

Las pesas y mancuernas son objetos que se destacan como los de mayor riesgo, ya que son manipuladas constantemente con las manos y en la mayoría de los casos no se desinfectan después de cada uso entre usuarios. Por otro lado, las máquinas de musculación también presentan altos niveles de contaminación especialmente en las agarraderas, zonas de espaldares y asientos en donde hay contacto directo con la piel y la ropa de los usuarios, y sumado el calor corporal y la humedad generada durante el ejercicio, favorece la supervivencia de distintos microorganismos gram positivos (5,20).

Objetos como las colchonetas utilizadas en ejercicios funcionales, también se constituyen como superficies vulnerables a la contaminación. Su contacto directo con diferentes áreas del cuerpo y la exposición constante al sudor favorecen la acumulación de microorganismos ya que el material de estos implementos suelen ser porosos o acolchados facilitando que las bacterias pueden persistir durante periodos prolongados (8,9,39).

Asimismo, otros elementos de contacto frecuente como las barras y bicicletas estáticas pueden actuar como vehículos para la transmisión bacteriana. diversos estudios han demostrado que las superficies compartidas en espacios cerrados favorecen el intercambio constante de microorganismos entre personas y el entorno físico aumentando así, el riesgo de propagación de microorganismos resistentes y aumentar la probabilidad de contaminación cruzada (5,9,35,40).

4.2.5.- MÉTODOS DE MUESTREO MICROBIOLÓGICO EN SUPERFICIES

El muestreo microbiológico de superficies es una herramienta esencial para evaluar la presencia de microorganismos en ambientes donde existe contacto frecuente con distintos usuarios. Este tipo de análisis son utilizados en estudios ambientales, en la industria alimentaria y en áreas de salud pública, debido a su eficacia para identificar fuentes de transmisión de microorganismos (41,42).

Las normativas y guías técnicas que contiene información acerca de análisis microbiológicos en superficies, generalmente recomiendan primero identificar el tipo de superficie que se va a analizar, ya sea superficies vivas o inertes, para el caso de los gimnasios las superficies son inertes en donde se incluyen aquellas manipuladas por los usuarios durante la actividad física como mancuernas, barras en zona de agarre, caminadoras, colchonetas, máquinas de musculatura, entre otros (9).

4.2.5.1.- TIPOS DE MUESTREO

De acuerdo con la Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas, realizada por el Ministerio de Salud de Perú (MINSA), se establece que entre los métodos de muestreo para superficies en contacto con alimentos se encuentra el método de hisopo que puede utilizarse tanto en superficies regulares como irregulares.

El procedimiento se inicia colocando una plantilla estéril de 10 cm x 10 cm sobre la superficie para delimitar el área a analizar, luego se humedece previamente el

hisopo en una solución estéril y se aplica sobre la superficie con una inclinación de 30° frotando 4 veces la superficie delimitada por la plantilla, cada una en dirección opuesta a la anterior. Finalmente se introduce el hisopo en el tubo quebrando la parte que estuvo en contacto con los dedos del muestreador, para desecharla y asegurarse de que el tubo esté cerrado correctamente para el transporte (43).

Por otro lado, la norma ISO 18593-2018 también establece también algunos métodos para el muestreo microbiológico como: como hisopos, esponjas o placas de contacto. De acuerdo con la normativa se recomienda identificar un área específica, con el objetivo de obtener una muestra representativa, Sin embargo, la normativa indica que si el área de muestreo no está definida, debe describirse claramente y ser accesible, se recomienda superficies entre 100 y 3000 cm^2, ya que el tamaño de la superficie analizada puede influir en la cantidad de microorganismos recolectados durante el muestreo. Además la técnica de esta normativa señala que la determinación de los microorganismos puede verse afectada cuando el muestreo se realiza inmediatamente después de la limpieza ya que las bacterias pueden seguir activas pero ya no ser cultivables y se sugiere hacer el muestreo después cierto tiempo del uso de las superficies (44).

Para el transporte de las muestras obtenidas por el método de hisopado, las guías y normativas recomiendan el uso de diluyentes o soluciones neutralizantes que permitan la conservación del microorganismo recolectados, entre los más utilizados están agua de peptona estéril o caldos (43,44).

4.2.5.2.- MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS PARA BACTERIAS GRAM POSITIVAS

Para la siembra, aislamiento e identificación de bacterias Gram positivas es necesario la utilización de medios de cultivos selectivos, entre los más empleados en estudios de microbiología están el agar sangre que permite el crecimiento de un sinnúmero de microorganismos además de la observación de hemólisis y el agar manitol salado que es selectivo para bacterias del género *Staphylococcus*. Estos

medios al ser bastante utilizados en diversas investigaciones del área de microbiología para el aislamiento y caracterización de bacterias presentes en diferentes muestras (45–47).

Además del agar sangre y el agar manitol salado, la utilización combinada de medios selectivos incrementa la capacidad de recuperación e identificación preliminar de bacterias Gram positivas presentes en muestras clínicas y ambientales. El agar sangre continúa siendo uno de los medios de referencia debido a su elevada capacidad nutritiva y a la posibilidad de evaluar patrones hemolíticos que es un punto fundamental para la diferenciación de diversos microorganismos. Por otro lado, el agar manitol salado posee una alta concentración de cloruro de sodio (7,5 %), lo que inhibe el crecimiento de la mayoría de bacterias Gram negativas y favorece el desarrollo de especies halotolerantes como las pertenecientes al género *Staphylococcus*. Estudios recientes destacan que estos medios continúan formando parte de los protocolos microbiológicos de rutina debido a su alta sensibilidad para el aislamiento primario, bajo costo y facilidad de interpretación (48,49).

4.2.6.- MÉTODO DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La identificación bacteriana es un pilar fundamental en la microbiología clínica ya que permite reconocer los microorganismos presentes en diferentes superficies y permite comprender sus posibles riesgos en la salud pública e identificar riesgos sanitarios y epidemiológicos (50).

Dentro de este estudio de identificación de bacterias Gram positivas en superficies de gimnasios, es clave para determinar la presencia de microorganismos potencialmente patógenos que puedan acumularse en estas superficies debido al contacto humano constante y la humedad.

Entre los métodos más utilizados para la identificación bacteriana, los laboratorios emplean actualmente tanto métodos tradicionales como tecnologías más actualizadas, entre las técnicas más utilizadas se destacan la tinción de Gram que

permite clasificar rápidamente las bacterias según sus características celulares y la espectrometría de masas MALDI-TOF, que es una herramienta capaz de identificar microorganismo con mayor precisión y en menor tiempo. La combinación de procedimientos convencionales y tecnologías modernas actualizadas han optimizado el diagnóstico microbiológico favoreciendo a una identificación más rápida, más específica y confiable acerca de los microorganismos presentes en superficies de uso compartido (51,52).

Los avances tecnológicos de los métodos de identificación bacteriana han permitido mejorar significativamente la sensibilidad diagnóstica y acortar los tiempos para el reconocimiento de especies microbianas tanto en muestras ambientales como clínicas. Tecnologías las modernas como MALDI-TOF han transformado la microbiología debido a su alta precisión y por la posibilidad de aplicar este método de manera rutinaria en laboratorios de diagnóstico (53).

4.2.6.1.- TINCIÓN DE GRAM

La tinción de Gram es una de las técnicas microbiológicas más destacadas utilizada para la clasificación inicial de bacterias, es un método que permite diferenciar microorganismos Gram positivos y Gram negativos según sus características estructurales de su pared celular. En investigaciones microbiológicas la tinción de Gram es una técnica fundamental como primer paso para orientar la identificación bacteriana y seleccionar pruebas posteriores más específicas (29).

A pesar de los avances microbiológicos, esta técnica sigue siendo un procedimiento esencial en el área de microbiología por su simplicidad, rapidez y su eficacia en la caracterización morfológica de las bacterias, de igual manera, bibliografía científica sostiene que la tinción de Gram sigue siendo un método básico e indispensable en laboratorios clínicos ya que es utilizada tanto en la práctica clínica como en la investigación (29,54,55).

- **FUNDAMENTO**

Los principios de la tinción de Gram se basan en las características estructurales y en la composición de la pared celular bacteriana, las cuales les confieren propiedades determinantes a cada microorganismo. El proceso de la tinción de Gram se basa en aplicar como colorante primario cristal violeta que se adhiere a la pared celular bacteriana ya que tiene afinidad con el peptidoglicano, luego se coloca Lugol, que actúa como fijador, es decir fija el colorante e impide la salida del cristal violeta de algunas especies de bacterias, facilitando la formación de un complejo cristal violeta-Lugol. Posteriormente, se utiliza una solución de alcohol acetona que deshidrata la pared bacteriana, este paso afecta principalmente a las bacterias Gram negativas ya que destruye su membrana externa debido a que ésta es soluble a la acción de disolventes orgánicos, como la mezcla de alcohol acetona. En cambio las bacterias Gram positivas, al contener una gran cantidad de peptidoglicano, retienen este complejo y permanecen teñidas de violeta, mientras que las Gram negativas no lo pueden retener por tener menos cantidad de peptidoglicano en su pared. Por último, se coloca safranina, este funciona como colorante secundario, tiñe de rosa aquellas bacterias que no pudieron retener el complejo cristal violeta-lugol, facilitando así su distinción al microscopio (29).

- **VENTAJAS**

La tinción de Gram se caracteriza por ser un método rápido, de bajo costo y sencillo de aplicar, lo que la hacen una técnica accesible para laboratorios de diferente niveles de complejidad, gracias a su facilidad de uso permite obtener información en un corto periodo de tiempo sobre la morfología bacteriana y su clasificación en bacterias Gram positivas y Gram negativas, estas propiedades favorecen su utilización en estudios microbiológicos tanto ambientales como epidemiológicos relacionados con superficies de uso compartido, como en la presente investigación (29).

Esta técnica se constituye como una herramienta diagnóstica destinada a orientar decisiones microbiológicas, sirve de complemento para métodos de identificación más específicos, a nivel clínico permite detectar la presencia de microorganismo en

una muestra antes de obtener resultados de cultivos, contribuyendo en el diagnóstico de enfermedades o afecciones patológicas (51,54).

De igual manera, la tinción de Gram puede ser útil para identificar o excluir infecciones bacterianas específicas y ayuda a disminuir el uso innecesario de antibióticos de amplio espectro contribuyendo así a disminuir el desarrollo de la resistencia bacteriana (51,56).

- **LIMITACIONES**

La tinción de Gram presenta ciertas limitaciones relacionadas con la identificación bacteriana a nivel de especie, también factores como la edad del cultivo, ya que los cultivos con células más antiguas aquellos de más de 24 horas pierden su gran positividad y parecen gramnegativas. Errores en el proceso de decoloración puede ser también una limitante en esta técnica, factores como el calor excesivo durante la fijación puede provocar la pérdida de células Gram positivas ya que el calor degrada la pared celular. La aglomeración celular, esta puede provocar una decoloración inadecuada afectando el proceso de la tinción de Gram, ya que las extensiones de muestra menos densas se decoloran más rápidamente que las gruesas cuando hay exceso de células, causando que las bacterias gram positivas pierdan la capacidad de retener el complejo de coloración y se conviertan en Gram negativas (54).

4.2.6.2.- TÉCNICA DE MALDI-TOF

La espectrometría de masas MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight) se ha convertido en una de las herramientas más innovadoras y precisas para la identificación microbiológica moderna, convirtiéndose en una técnica utilizada de forma rutinaria en laboratorios clínicos para la identificación de cepas patógenas, pero también se aplica cada vez más para análisis ambientales y a nivel de alimentos. Esta tecnología ha llegado a transformar tanto el diagnóstico clínico como ambiental ya que permite identificar diferentes microorganismos de manera rápida, automatizada y con un alto grado de

exactitud, además su implementación en investigaciones microbiológicas ambientales permite identificar bacterias presentes en superficies contaminadas en un corto periodo de tiempo (57–59).

La técnica de MALDI-TOF representa un avance tecnológico clave en la microbiología gracias a su rapidez y precisión y debido a su altos niveles de sensibilidad y exactitud diagnóstica superado así a muchos métodos tradicionales utilizados en laboratorio (53,57,58).

- **FUNDAMENTO**

La espectrometría de masas MALDI-TOF es un método que se basa en la ionización de proteínas bacterianas, principalmente proteínas ribosómicas, a través de un láser de nitrógeno que actúa sobre una matriz, los iones generados son acelerados hacia un tubo de vuelo bajo un campo electrostático y separados según su relación masa/carga produciendo un espectro proteico característico de cada microorganismo y gracias a un detector de iones ubicado al final del tubo de vacío, los espectros de proteínas generados se comparan con la base de datos de referencia para lograr su identificación de género y especie. Actualmente, MALDI-TOF es considerada una de las herramientas más importantes en microbiología clínica por su rapidez y exactitud diagnóstica, además esta técnica depende de la calidad de las bases de datos espectrales y de la adecuada preparación de las muestras bacterianas sin embargo el tiempo requerido para la identificación microbiológica con esta técnica es bastante rápido (53,57,60).

- **VENTAJAS**

Entre las principales ventajas de esta técnica se destacan su rapidez diagnóstica, su alta precisión y su capacidad para identificar múltiples microorganismos en corto periodo de tiempo, además, disminuye costos operativos a largo plazo y reduce el uso de reactivos convencionales, tiene aplicaciones de investigación importantes en la detección temprana y rápida de patógenos altamente virulentos y resistentes a los fármacos incluidos los virus de la influenza, los virus de la hepatitis y los herpesvirus (60).

Otra de las ventajas es que puede ser una técnica que no solo se limita a identificar en cepas cultivadas en medios sólidos sino es aplicable para muestras líquidas clínicas, incluyendo hemocultivos, orina, líquido cefalorraquídeo (LCR) y otros fluidos corporales, muestra también ventajas sobre las tecnologías de diagnóstico de laboratorio tradicionales, ya que la identificación tradicional de bacterias de cultivos clínicos de rutina se basa en exámenes bioquímicos y microscópicos y otros métodos, en cambio MALDI-TOF acorta el tiempo requerido para la identificación bioquímica tradicional y mejora la precisión de los exámenes microscópicos tradicionales (53,60).

- **LIMITACIONES**

A pesar de sus múltiples beneficios, MALDI-TOF presenta limitaciones asociadas principalmente al costo elevado de los equipos y a la dependencia de bases de datos para lograr identificaciones precisas, asimismo, algunas especies bacterianas con espectros de masas similares pueden dificultar su diferenciación exacta (60).

También pueden presentarse errores en la exactitud cuando las muestras analizadas presentan algún tipo de contaminación o preparación inadecuada, otra desventaja es la cantidad de personal formado y entrenado que se necesita para la realización de este tipo de procesos, sin embargo con el tiempo, estas limitaciones seguramente irán disminuyendo, el precio de las tecnologías suelen descender con el transcurso de los años y las bases de datos irán ampliándose y mejorando (53,57,61).

4.2.7.- CONTROL Y PREVENCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA

El control y prevención de la contaminación microbiológica constituyen aspectos clave para disminuir la presencia y diseminación de microorganismos patógenos, especialmente en ambientes de uso compartido. Los gimnasios se consideran espacios con una elevada interacción entre los usuarios que acuden a estos lugares y las múltiples superficies de contacto como máquinas de ejercicio, pesas,

mancuernas y colchonetas, esta constante interacción favorece la transferencia de microorganismos desde la piel, manos o la ropa de los usuarios hacia las superficies y el entorno. Estudios han evidenciado que tanto los equipos como las superficies presentes en las instalaciones deportivas pueden actuar como reservorios de bacterias patógenas y esta situación destaca la importancia de implementar y mejorar protocolos de higiene, limpieza y desinfección, que ayuden a disminuir la carga microbiana y reducir los riesgos de transmisión de microorganismos que puedan afectar la salud de los usuarios (5).

La contaminación microbiana en este tipo de superficies compartidas está determinada por factores como la frecuencia de uso de los equipos, condiciones ambientales como temperatura y humedad, el cumplimiento de normas de higiene personal y la capacidad de supervivencia que tienen los microorganismos en superficies inertes, en este contexto, las bacterias Gram positivas presentan una alta capacidad de supervivencia en el ambiente debido a sus características estructurales de su pared celular, favoreciendo su estabilidad en las superficies aumentando el riesgo de probabilidad de una contaminación cruzada entre usuarios (31,62,63).

4.2.7.1.- PROTOCOLOS DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN EN GIMNASIOS

Los protocolos de limpieza y desinfección constituyen una de las principales estrategias para el control de la contaminación microbiológica en instalaciones deportivas, debido a que permiten reducir la presencia y persistencia de microorganismos potencialmente patógenos en superficies de contacto frecuente. La aplicación sistemática de estas medidas resulta fundamental en gimnasios, donde el uso compartido de equipos y la elevada afluencia de usuarios favorecen la transferencia y dispersión de microorganismos entre individuos y el ambiente (64,65).

Los protocolos de limpieza y desinfección son procedimientos fundamentales empleados para controlar y reducir la contaminación microbiológica en instalaciones

deportivas, la limpieza implica eliminar físicamente la suciedad, materia orgánica y residuos presentes en las superficies, mientras que el proceso de desinfección implica el uso de agentes químicos o físicos destinados a inactivar o eliminar microorganismos, la efectividad de la desinfección está relacionada con una limpieza previa adecuada, ya que la presencia de materia orgánica puede reducir la acción de los desinfectantes sobre los microorganismos (64–67).

Las recomendaciones actuales para gimnasios y centros deportivos sugieren desinfectar con frecuencia cada una de las superficies de superficies de contacto frecuente, sobre todo aquellas manipuladas continuamente por múltiples usuarios, además la limpieza debe adaptarse a cuan concurrido sea el lugar priorizando equipos de ejercicio, mancuernas y barras, ya que se ha demostrado que realizar una limpieza efectiva y de manera regular implementación sistemática de procedimientos de limpieza reduce la carga microbiana ambiental y disminuye el riesgo de transmisión microbiológica (20,68,69).

4.2.7.2.- ROL DEL PERSONAL Y USUARIOS

Prevenir la contaminación microbiológica en espacios deportivos como los gimnasios es una tarea que requiere atención tanto del personal administrativo como de quienes hacen uso de las distintas instalaciones, además el personal de limpieza también desempeña un papel esencial en la implementación y supervisión de protocolos de higiene, ya que debe garantizar la correcta aplicación de desinfectantes y dar cumplimiento de los cronogramas de limpieza así como de realizar evaluaciones periódica de las condiciones sanitarias del establecimiento (5,20).

Por otra parte, los usuarios constituyen un factor fundamental en el proceso de transmisión de microorganismos dentro de los gimnasios, ya que pueden actuar como fuentes y receptores de contaminación microbiana, por ello la implementación de prácticas de higiene adecuadas como el lavado frecuente de manos, el uso de toallas individuales, la limpieza de equipos antes y después de su utilización

contribuyen a reducir la contaminación de superficies compartidas. Asimismo la educación sanitaria y la promoción de hábitos higiénicos se constituyen como herramientas clave para fortalecer la cultura de prevención dentro de los gimnasios ya que se ha comprobado en diversas investigaciones que los programas de capacitación dirigidos a usuarios de gimnasios mejora el cumplimiento de medidas preventivas reduciendo riesgos microbiológicos relacionados al uso compartido de equipos deportivos (5,67,70).

4.2.7.3.- MONITOREO MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIES

El monitoreo microbiológico constante en superficies se define como una herramienta fundamental dentro de los programas de control y prevención de la contaminación microbiológica ya que permiten evaluar la presencia, distribución y persistencia de microorganismos en ambientes especialmente aquellos de uso compartido (64).

En instalaciones deportivas, donde existe contacto frecuente entre los usuarios y superficies, el monitoreo microbiológico aporta información relevante para identificar posibles reservorios de bacterias y determinar la eficacia de las medidas de limpieza y desinfección que son implementadas en estos espacios, la evidencia científica ha demostrado que la contaminación de superficies puede contribuir a la transmisión indirecta de microorganismos, especialmente cuando las prácticas de higiene y desinfección son insuficientes. En el contexto de los gimnasios, las superficies de alto contacto son consideradas puntos prioritarios para el control microbiológico debido a la frecuencia con la que son manipuladas por múltiples usuarios, ya que estudios han reportado la presencia de microorganismos potencialmente patógenos en este tipo de superficies, destacando la importancia de implementar programas de monitoreo que permitan identificar oportunamente fuentes de contaminación y fortalecer las estrategias preventivas (5,64).

Además de ser útil para evaluar riesgos sanitarios, el monitoreo microbiológico permite detectar contaminación existente y se constituye como una estrategia

preventiva para disminuir la propagación de microorganismos en ambientes de uso compartido y promover condiciones más seguras para los usuarios (71).

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

II.1.- Diseño de investigación.

La investigación presenta un enfoque cuantitativo y un diseño descriptivo, orientado a caracterizar las bacterias Gram positivas presentes en superficies de contacto frecuente de los gimnasios seleccionados. El nivel de investigación es descriptivo, ya que busca identificar y caracterizar los microorganismos presentes en las muestras recolectadas, sin modificar sus condiciones habituales, la recolección se realizó en un período determinado sin seguimiento posterior. Por las características de su ejecución, corresponde a un estudio de campo, observacional y transversal actual.

II.2.- Población y muestra.

II.2.1.- Universo - Población:

El universo del presente estudio estuvo constituido por todas las superficies de contacto frecuente presentes en los gimnasios de la ciudad de Cuenca – Ecuador que son susceptibles a contaminación microbiológica. La población estuvo conformada por las superficies de alto contacto ubicadas en dos gimnasios seleccionados de la ciudad.

II.2.2.- Muestreo y muestra

II.2.2.1. Muestreo: Las muestras se obtuvieron mediante un muestreo no probabilístico, seleccionando dos gimnasios que autorizaron la toma de muestras microbiológicas.

II.2.2.2. Muestra: Se tomaron 100 muestras de superficies, distribuidas equitativamente entre los dos gimnasios (50 muestras por establecimiento), recolectadas de distintos equipos y áreas de uso frecuente.

II.3.- Criterios de selección: Para la formalización del universo se tuvo en cuenta los siguientes criterios de selección:

> **II.3.1. Criterios de inclusión:** En el presente estudio se incluyeron superficies de contacto frecuente correspondientes a equipos de uso común de los dos gimnasios seleccionados para el estudio, equipos

manipulados directamente por los usuarios mediante el contacto de manos o piel durante la actividad física, como mancuernas, barras, discos, máquinas de musculación, bicicletas estáticas, caminadoras, colchonetas, bancos y otros implementos de uso compartido.

Equipos que se encontraban en funcionamiento durante el período de muestreo y equipos pertenecientes a los dos gimnasios que autorizaron la realización del estudio. La selección de las superficies se realizó independientemente de su condición de limpieza o desinfección previa; por tanto, no se estableció como criterio un intervalo determinado entre la limpieza o desinfección y la toma de muestras.

II.3.2. Criterios de exclusión: Se excluyeron del estudio de superficies de equipos que se encontraban fuera de servicio o en mantenimiento durante el período de muestreo y superficies de uso exclusivo para el personal administrativo.

II.4.- Definición y clasificación de las variables

1. **Clasificación bacteriana:** Cualitativa nominal

Definición: Presencia e identificación de microorganismo, en muestras recolectadas, determinada mediante cultivo bacteriológico y tinción de Gram.

Escala de medición:

- **Gram positivas:** bacterias que retienen el cristal violeta durante la tinción de Gram, observándose de color violeta al microscopio.
- **Gram negativas:** bacterias que no retienen el cristal violeta durante la tinción de Gram.

2. **Morfología de bacterias Gram positivas:** Cualitativa nominal

Definición: Caracterización morfológica de bacterias Gram positivas identificadas en las muestras, determinada mediante tinción de Gram, observación microscópica y confirmación por técnica de MALDI-TOF.

Escala de medición:

- **Cocos Gram positivos en racimos:** bacterias esféricas se observan agrupadas de forma irregular.
- **Cocos Gram positivos en cadenas:** bacterias esféricas se observan en alineadas en cadenas.
- **Diplococos Gram positivos:** bacterias esféricas se observan dispuestas en pares.

3. **Tipo de superficie del gimnasio:** Cualitativa nominal

Definición: Superficies de contacto frecuente dentro de los gimnasios donde se realizó la toma de muestras microbiológicas.

Escala de medición:

- Mancuernas (zona de agarre)
- Barras (zona de agarre)
- Caminadoras (manubrios y panel de control)
- Bicicletas estáticas (agarraderas)
- Colchonetas
- Espaldares de máquinas de musculatura
- Manubrios de máquinas de musculatura
- Asientos de máquinas de musculatura

II.5.- Procedimientos, técnicas e instrumentos para la obtención de datos.

II.5.1. Preparación de medios de cultivos

Se prepararon 120 cajas bipetri con agar sangre, destinadas a las diferentes etapas de siembra inicial y posteriores aislamientos bacterianos. La cantidad de medios preparados se estableció en función del número de muestras recolectadas y de los aislamientos requeridos para la obtención de colonias puras. Asimismo, se prepararon 100 tubos con caldo tioglicolato para la recolección y transporte de las muestras.

II.5.2. Toma de muestra

El estudio se llevó a cabo en dos gimnasios, donde se recolectaron muestras microbiológicas de superficies de uso frecuente, tales como mancuernas, barras, caminadoras, bicicletas estáticas, colchonetas, espaldares, manubrios y asientos de máquinas de musculatura. En cada superficie se delimitó un área de 10 cm x 10 cm.

La toma de muestra se realizó mediante la técnica de hisopado en zigzag, realizando un barrido vertical seguido de uno horizontal sobre cada superficie seleccionada. Posteriormente, los hisopos fueron colocado en tubos de ensayo con caldo tioglicolato, con el fin de mantener las condiciones adecuadas para el transporte y la viabilidad de los microorganismos presentes. Las muestras fueron incubadas durante 48 horas a 37 °C para favorecer el crecimiento bacteriano.

II.5.3 Siembra y aislamientos

Transcurridas las 48 horas de incubación, se procedió a realizar la sembrar en agar sangre, mediante la técnica de estría, utilizando un asa de platino estéril. Las placas fueron incubadas durante 48 horas a 37 °C.

Posteriormente, se describieron las características macroscópicas de las colonias obtenidas y se realizó la tinción de Gram para determinar su clasificación como bacterias Gram positivas, así como su morfología (cocos o bacilos).

Se observó crecimiento bacteriano en la totalidad de las 100 placas sembradas. Con el objetivo de obtener colonias puras, se realizó un primer aislamiento, con el

método de estría por agotamiento, seguido de una nueva incubación durante 48 horas a 37 °C.

Luego de este periodo, se seleccionaron las muestras más representativas según su morfología. La mayoría de las placas presentaron características similares, mientras que una mostró morfología diferente. En total, se seleccionaron 20 placas: 19 con morfología predominante y 1 con morfología distinta. A partir de estas 20 placas se efectuó un segundo aislamiento por el mismo método de estría por agotamiento, incubándose durante 24 horas a 37 °C.

II.5.4 Técnica de MALDI-TOF

Se realizó un tercer aislamiento con el fin de garantizar la obtención de colonias completamente puras, requisito indispensable para la identificación bacteriana mediante la técnica de MALDI-TOF.

Las muestras fueron incubadas durante 3 horas a 37 °C y posteriormente transportadas al laboratorio encargado de realizar el análisis mediante esta técnica, la cual permitió la identificación precisa de género y especie de los aislados bacterianos.

II.5.5 Procedimientos estadísticos y análisis de datos

Los datos obtenidos mediante la técnica de identificación bacteriana MALDI-TOF fueron organizados en una base de datos en Microsoft Excel. Posteriormente, se realizó un análisis estadístico descriptivo, calculando frecuencias absolutas y relativas (porcentajes) para determinar la distribución de los microrganismos identificados. Los resultados fueron presentados mediante tablas.

II.6.- Aspectos éticos

Se contó con la autorización de los establecimientos donde se realizó la recolección de muestras, garantizando la confidencialidad de la información y que los resultados obtenidos fueron utilizados exclusivamente con fines académicos. Asimismo, los resultados fueron reportados de manera objetiva y transparente, sin alteración ni manipulación de la información obtenida durante el proceso experimental.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.1.- RESULTADOS

III.1.- Crecimiento Bacteriano y Aislamiento de Colonias.

En este trabajo de investigación se analizaron un total de 100 muestras que fueron recolectadas de diferentes superficies de dos gimnasios de la ciudad de Cuenca, de las cuales 50 correspondieron al gimnasio A y 50 al gimnasio B, la inoculación inicial se realizó en agar Sangre y posterior a su incubación se observó crecimiento bacteriano en las 100 muestras analizadas.

A través de una evaluación macroscópica se evidenció diversos tipos de colonias que presentaron variación en tamaño, color y aspecto, se observaron colonias de tamaño pequeño (puntiformes) y medianas, predominaron colonias de color blanco y en algunas muestras hubo presencia de colonias de tonalidad amarilla. En cuanto al aspecto, la mayoría de colonias fueron de aspecto cremoso, superficie lisa y bordes definidos, además se registró una variabilidad en el crecimiento bacteriano entre las distintas muestras, algunas presentaron crecimiento escaso con un número reducido de colonias, en otras placas hubo un crecimiento aislado que permitió distinguir con claridad los diferentes tipos de colonias presentes y mientras que en otros cultivos hubo crecimiento no aislado (Confluente).

En la evaluación macroscópica también se observaron colonias con hemólisis alfa caracterizadas por la presencia de una coloración verdosa alrededor de las colonias y también se encontraron muestras con hemólisis beta identificadas por la presencia de un halo transparente a su alrededor, debido al aspecto que este tipo de hemólisis dan a los cultivos microbiológicos, dichas muestras no fueron consideradas para los siguientes análisis de identificación bacteriana.

A partir de las muestras obtenidas en la siembra inicial, se descartaron aquellas que presentaron hemólisis y se realizó un primer aislamiento en agar sangre, posteriormente estos cultivos fueron revisados y se seleccionaron aquellas muestras que mejor representaban cada tipo de colonia que creció. Las muestras seleccionadas fueron clasificadas según sus características macroscópicas

incluyendo forma, tamaño y aspecto general, y con base a esta clasificación se escogieron 20 muestras para realizar un segundo aislamiento con el propósito de obtener colonias aisladas y cultivos puros, reduciendo la presencia de mezclas bacterianas y posibles contaminaciones.

Como resultado de este proceso de aislamiento bacteriano se obtuvieron cultivos con características macroscópicas homogéneas y un crecimiento bacteriano adecuado para análisis posteriores, las colonias obtenidas correspondieron principalmente a morfotipos de color blanco y amarillo, de tamaño pequeño a mediano con bordes regulares y de aspecto cremoso, características que coincidieron con los diferentes tipos de colonias que se observaron en la siembra inicial. Esto permitió obtener cultivos puros y aislados de los principales colonias identificadas y a partir de estos cultivos se realizó el tercer aislamiento para garantizar la pureza de las colonias seleccionadas, éstos últimos aislamientos fueron utilizados para la identificación bacteriana mediante espectrometría de masas MALDI-TOF.

III.2.- Tinción de Gram

Se realizó la tinción de Gram a las 100 muestras las cuales presentaron crecimiento bacteriano tras el periodo de incubación. Mediante este método se identificó si las bacterias eran Gram positivas o negativas, basándose en que las bacterias Gram positivas al contar con una pared celular compuesta de peptidoglucanos, retienen el cristal violeta durante la tinción, manifestándose mediante una intensa coloración violeta. Mientras que, las bacterias Gram negativas poseen una pared celular delgada de peptidoglucanos, situada en el espacio periplásmico entre dos membranas, estas estructuras no son capaces de retener el cristal violeta, por lo que pierden el color morado tras el lavado con el alcohol acetona, lo que facilita la absorción de la safranina adquiriendo una tonalidad rosa (72).

Posterior al procedimiento de tinción, se observó que el 100% de las muestras analizadas presentó bacterias Gram positivas, evidenciadas por la coloración violeta

intensa característica. Respecto a la morfología, en el 99% de las muestras se identificaron cocos Gram positivos con una disposición predominante en agrupaciones irregulares, compatible con el género *Staphylococcus*. Sin embargo, en una de las muestras analizadas se observó una morfología distinta, cocos Gram positivos dispuestos en cadenas cortas y diplococos. Esta morfología se asocia típicamente con el género *Enterococcus*.

III.3.- Técnica de MALDI-TOF

Los resultados obtenidos mediante técnica de MALDI-TOF, aplicada a 20 aislamientos representativos seleccionados, permitieron determinar la especie de los aislamientos analizados y complementar los resultados obtenidos durante la caracterización microbiológica. En la mayoría de los aislamientos se obtuvo una identificación específica a nivel de especies, correspondiente a los microorganismos perteneciente al género *Staphylococcus.* No obstante, uno de los aislamientos presentó un resultado no concluyente, debido a que S*taphylococcus aureus* y *Staphylococcus simulans* obtuvieron un nivel de confianza equivalente del 50.0% por lo que no fue posible establecer cuál de las dos especies correspondía al aislamiento. Por lo tanto, este resultado se mantuvo como no concluyente a nivel de especie para su consideración en el análisis de los resultados.

Tabla III.1. Identificación y nivel de confianza de los microorganismos aislados de superficies de gimnasios mediante espectrometría de masas

Aislado	Microorganismo identificado	Método de identificación	Nivel de confianza
Aislado 1	*Staphylococcus aureus*	Espectrometría de masas	99.9%

Aislado 2	*Staphylococcus simulans*	Espectrometría de masas	99.9%
Aislado 3	*Staphyloccus aureus*	Espectrometría de masas	50.0%
Aislado 3	*Staphyloccus simulans*	Espectrometría de masas	50.0%
Aislado 4	*Staphylococcus aureus*	Espectrometría de masas	99.9%
Aislado 5	*Staphylococcus epidermis*	Espectrometría de masas	99.9%
Aislado 6	*Staphylococcus epidermis*	Espectrometría de masas	99.9%
Aislado 7	*Staphylococcus aureus*	Espectrometría de masas	99.9%
Aislado 8	*Staphylococcus warneri*	Espectrometría de masas	99.9%
Aislado 9	*Staphyloccus aureus*	Espectrometría de masas	99.9%
Aislado 10	*Staphyloccus epidermis*	Espectrometría de masas	99.9%
Aislado 11	*Staphyloccus epidermis*	Espectrometría de masas	99.9%

Aislado 12	*Staphyloccus epidermis*	Espectrometría de masas	99.9%
Aislado 13	*Staphyloccus epidermis*	Espectrometría de masas	99.9%
Aislado 14	*Staphylococcus warneri*	Espectrometría de masas	99.9%
Aislado 15	*Staphylococcus epidermis*	Espectrometría de masas	99.9%
Aislado 16	*Staphylococcus aureus*	Espectrometría de masas	99.9%
Aislado 17	*Staphylococcus aureus*	Espectrometría de masas	99.9%
Aislado 18	*Staphylococcus epidermis*	Espectrometría de masas	99.9%
Aislado 19	*Staphylococcus capitis*	Espectrometría de masas	99.9%
Aislado 20	*Enterococcus faecium*	Espectrometría de masas	99.9%

La distribución de los microorganismo identificado mostró un predominio del género *Staphylococcus*, el cual representó el 95% de los aislamientos analizados. Dentro de este género, las especies más frecuentes fueron *Staphylococcus epidermis* (40%) y *Staphylococcus aureus* (30%). Asimismo, se identificó un aislamiento

correspondiente a *Enterococcus faecium* (5%). La distribución de las especies identificadas se presenta en la Tabla III.2.

Tabla III.2. Distribución de bacterias Gram positivas mediante MALDI-TOF

Especie	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Staphylococcus epidermis	8	40%
Staphylococcus aureus	6	30%
Staphylococcus warneri	2	10%
Staphylococcus aureus/Staphylococcus simulans	1	5%
Staphylococcus capitis	1	5%
Staphylococcus simulans	1	5%
Enterococcus faecium	1	5%
Total	20	100%

La identificación de bacterias en superficies de alto contacto dentro de los gimnasios evidencia la importancia de la higiene ambiental y personal en estos espacios. Los resultados de este estudio demostraron una predominancia de bacterias Gram positivas de los géneros *Staphylococcus* y *Enterococcus*. Estos hallazgos sugieren que dichas superficies actúan como reservorios lo que pueden favorecer la supervivencia y transmisión de microorganismos asociados a infecciones cutáneas y otras afecciones.

III.2.- DISCUSIÓN

La obtención de crecimiento bacteriano en el 100% (100/100) de las muestras recolectadas coincide plenamente con lo descrito por Almeida et al., en Teresina (Piauí, Brasil): al analizar muestras de esteras, extensoras y barras rectas de tres gimnasios, estos autores observaron crecimiento significativo en la totalidad de las superficies evaluadas (8). Un comportamiento similar fue reportado por Kiborus et al., en un centro de acondicionamiento físico de Kentucky (Estados Unidos), donde 39 de 42 hisopados (92%) resultaron positivos en agar Baird-Parker (73). En contraste, Silva et al., en Alfenas (Minas Gerais, Brasil), recuperaron microorganismos únicamente en 29 de 54 muestras (53,7%) (1). Esta discrepancia se explica de manera razonable por el diseño metodológico, ya que el estudio de Alfenas sembró los hisopos directamente en agar sal manitol, un medio selectivo, mientras que en la presente investigación las muestras fueron incubadas previamente durante 48 horas en caldo tioglicolato antes de la siembra en agar sangre. Este paso de enriquecimiento incrementa notablemente la recuperación de microorganismos viables presentes en baja carga; de hecho, Kiborus et al. atribuyen explícitamente su elevada positividad al empleo de un caldo de enriquecimiento y advierten que las investigaciones que omiten dicho paso tienden a informar prevalencias menores, e incluso nulas, sobre las mismas superficies (73).

En la tinción de Gram, el 100 % de las muestras presentó bacterias Gram positivas, con predominio de cocos en agrupaciones irregulares (99%) y un aislamiento de cocos en cadenas cortas y diplococos (1%). Estos resultados concuerdan con el estudio de Teresina, donde predominaron los cocos Gram positivos, aunque también se identificaron bacterias Gram negativas (8). Martens et al. reportaron igualmente predominio de taxones asociados a la microbiota cutánea, pero identificaron 61 especies, entre ellas *Acinetobacter lwoffi*i, bacteria Gram negativa (74). La ausencia de Gram negativos en este estudio podría relacionarse con el uso exclusivo de agar sangre, sin medios selectivos o diferenciales, además del descarte de colonias hemolíticas y la selección de morfotipos compatibles con

Staphylococcus, Turkstani et al. autor del estudio realizado en la región de La Meca identificaron aislamientos hemolíticos de *Bacillus*, *Micrococcus* y *Staphylococcus*, por lo que este criterio pudo limitar la recuperación de microorganismos de interés (75).

Respecto a la identificación por espectrometría de masas MALDI-TOF presentada en la Tabla III.1, el predominio del género *Staphylococcus* (95% de los aislamientos) coincide con la totalidad de las investigaciones internacionales revisadas. Kiborus et al., en Kentucky Estados Unidos, identificaron 48 aislamientos estafilocócicos distribuidos en *S. aureus* (n=11), *S. haemolyticus* (n=8), *S. saprophyticus* (n=7), *S. epidermidis* (n=5), *S. cohnii* y *S. hominis* (n=3 cada una), además de *S. warneri* y *S. simulans* (n=2 cada una) (73). La coincidencia con el presente estudio resulta notable en el caso de *S. warneri* (10 %) y *S. simulans* (5 %), especies raramente reportadas en este tipo de ambientes. Sin embargo, el estudio estadounidense mostró mayor diversidad de *estafilococos* coagulasa negativos, particularmente *S. haemolyticus* y *S. saprophyticus*, ausentes en los resultados del preste estudio; esta diferencia se explica porque dichos autores muestrearon también vestidores, bancas y pisos de duchas, ambientes húmedos que favorecen a estas especies, mientras que el presente trabajo se limitó a equipos de entrenamiento (73).

El predominio de *Staphylococcus epidermidis* (40 %) confirma que el origen principal de la contaminación es la microbiota cutánea de los usuarios, tal como concluye Martens et al. al demostrar que la proporción de bacterias asociadas a la piel se incrementa progresivamente durante la jornada hasta alcanzar cerca del 75% en el muestreo vespertino (74).

Respecto a *Staphylococcus aureus* (30% de los aislamientos), los resultados internacionales son marcadamente heterogéneos. Silva et al., en Alfenas, recuperaron *S. aureus* (confirmado por catalasa y coagulasa) en el 53,7 % de sus muestras (1); en cambio, Martens et al. identificaron apenas 6 aislamientos de *S. aureus* entre 248 (2,4 %) en Múnich (74), y el autor Yazir et al., tras muestrear equipos deportivos de seis centros de acondicionamiento físico del norte de Chipre,

no detectaron *S. aureus* resistente a meticilina en ninguna superficie, pese a que el 2,7 % de los 110 usuarios y entrenadores evaluados resultaron portadores (76). Es fundamental precisar que el 30% obtenido en este trabajo corresponde a 6 de los 20 aislamientos procesados por MALDI-TOF y no al total de superficies muestreadas; expresado sobre las 100 muestras iniciales, la proporción no superaría el 6%, valor mucho más próximo al reportado en Múnich, las diferencias entre estudios se deben tanto a la magnitud y forma de expresar el denominador como a la técnica de identificación empleada (MALDI-TOF frente a pruebas bioquímicas o PCR), al uso de medios selectivos, al horario de recolección y a la frecuencia de desinfección de cada establecimiento.

El aislamiento de *Enterococcus faecium* (5%) correspondió a la única muestra con cocos en cadenas cortas y diplococos, lo que respalda la preselección mediante morfotipos, este hallazgo coincide con Martens et al., quienes recuperaron *Enterococcus faecalis* en equipos de gimnasio (74), y con Banerjee y Banerjee, que reportaron una cepa multirresistente de *E. faecalis* en equipos de un gimnasio público de Tennessee Estados Unidos (77). La presencia de *Enterococcus*, asociado al tracto intestinal, podría indicar contaminación fecal por higiene de manos insuficiente, destacando la importancia del lavado de manos además de la desinfección de equipos, por otro lado, la identificación de *Staphylococcus aureus/ Staphylococcus simulans* con 50% de confianza evidencia una limitación para diferenciar especies filogenéticamente cercanas, por lo que serían necesarias pruebas como coagulasa o PCR.

Entre los factores que explican las similitudes y diferencias observadas, la afluencia de usuarios constituye el determinante más consistente en la literatura. En los dos gimnasios estudiados en la ciudad de Cuenca la concurrencia es elevada, con picos entre las 05:00 y 09:00, las 15:00 y 17:00, y las 20:00 y 22:00 horas. Martens et al. utilizaron una regresión logística multivariable para evaluar asociación entre diferentes factores y la presencia de contaminación bacteriana, identificando el momento del muestreo como el predictor independiente más fuerte, este análisis

permitió comparar la probabilidad relativa de contaminación entre los distintos momentos del día, tomando el muestreo matutino como referencia y encontraron que las muestras recolectadas al mediodía presentaron una asociación significativamente mayor con la contaminación respecto de aquellas tomadas en la mañana (OR ajustado = 7,19; $p < 0,001$) (74). Puesto que en la presente investigación las muestras se recolectaron en un único momento, los resultados representan una situación puntual y no el comportamiento de la carga bacteriana a lo largo del día.

La frecuencia de limpieza también resulta determinante, en este estudio, uno de los gimnasios realiza la limpieza una vez al día y el otro dos veces, en la mañana y en la tarde. Almeida et al. observaron que el gimnasio con deficiencias en la rutina de higienización presentó el mayor número de colonias, aproximadamente un 27% más que los otros dos establecimientos evaluados (8). En la misma línea, Martens et al. comprobaron que una única desinfección nocturna con amonio cuaternario reduce, pero no elimina, la carga microbiana, ya que la probabilidad de detectar *Staphylococcus* ascendió de 19,5% el primer día a 46,4% el quinto, evidenciando una acumulación progresiva entre ciclos consecutivos de limpieza (74). A ello se suma la adherencia de los usuarios, pues Silva et al. reportaron que el 50% de los asistentes no higienizaba los equipos y el resto se limitaba al uso de una toalla individual (1).

Entre las limitaciones de esta investigación, la principal radica en que, si bien se sembraron y se obtuvo crecimiento en las 100 muestras, únicamente 20 aislamientos fueron procesados mediante MALDI-TOF, esta decisión respondió al elevado costo de la técnica y a las restricciones presupuestarias del proyecto, por lo que la selección se realizó sobre la base de la morfología macroscópica de las colonias, escogiendo 19 con la morfología predominante y 1 con morfología distinta. Ello introduce un sesgo de selección y subestima la diversidad bacteriana real presente en las superficies, de manera que los porcentajes de la Tabla III.1

corresponden a los 20 aislamientos analizados y no a las 100 superficies muestreadas, por lo que no deben interpretarse como prevalencias por superficie.

Asimismo, el descarte de las muestras con hemólisis alfa y beta en los aislamientos sucesivos pudo haber excluido especies de relevancia clínica, como *Staphylococcus aureus* beta-hemolítico o *Streptococcus* spp., previamente documentadas en ambientes deportivos (75). El estudio se basó exclusivamente en métodos dependientes de cultivo, sin técnicas moleculares complementarias como la secuenciación del gen ARNr 16S, limitación que los propios Martens et al. reconocen al advertir que el cultivo solo recupera la fracción cultivable de la comunidad microbiana (74). Tampoco se realizaron pruebas de sensibilidad antimicrobiana, por lo que no fue posible contrastar los hallazgos con los perfiles de resistencia descritos en Kentucky (73), en el norte de Chipre (76) o en Tennessee (77).

Por último, los resultados no pueden generalizarse a otros gimnasios de la ciudad de Cuenca ni del país, puesto que se evaluaron únicamente dos establecimientos, en un solo momento de recolección y mediante una metodología cualitativa. La contaminación microbiológica de estos espacios depende de múltiples factores, entre ellos la afluencia de usuarios, la frecuencia y calidad de la limpieza, el horario de muestreo, la ventilación, la humedad relativa, el material de las superficies y la adherencia de los usuarios a las medidas de higiene, factores que en el presente trabajo no fueron controlados ni cuantificados. Investigaciones futuras deberían incorporar un mayor número de gimnasios, muestreos seriados en distintos horarios, métodos cuantitativos expresados en UFC/cm² y pruebas de sensibilidad antimicrobiana.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

IV.1.- CONCLUSIONES

- Este trabajo de investigación permitió caracterizar a través de pruebas microbiológicas las superficies de contacto frecuente en gimnasios de la ciudad de Cuenca, evidenciando la presencia de bacterias Gram positivas, en síntesis este hallazgo demuestra que los equipos y superficies compartidas por los usuarios que acuden a estos lugares tienen la capacidad de actuar como reservorios de microorganismos facilitando su persistencia y diseminación dentro de estos espacios. La presencia de crecimiento bacteriano en todas las superficies evaluadas respalda que la interacción constante entre los usuarios y los equipos genera condiciones favorables para la transmisión de microorganismos convirtiendo a los gimnasios en entornos donde el monitoreo microbiológico resulta relevante, de esta manera se cumplió el objetivo principal de identificar los microorganismos Gram Positivos presentes en estos espacios, generando información científica local que contribuye al conocimiento de la contaminación bacteriana en ambientes deportivos.

- A través de técnicas como el aislamiento bacteriano, la tinción de Gram y la identificación por espectrometría de masas MALDI-TOF fue posible determinar la composición bacteriana presente en las muestras obtenidas, los resultados evidenciaron un predominio de especies pertenecientes al género *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*, así como la presencia de *Enterococcus faecium*. Estas especies se encuentran estrechamente asociadas con la microbiota normal de la piel y mucosas humanas, indicando que el principal origen de la contaminación corresponde al contacto directo y constante de los usuarios con las superficies de los equipos. Asimismo, la identificación de microorganismos con importancia clínica permite evidenciar la capacidad de estos ambientes para actuar como vehículos de transmisión bacteriana especialmente cuando no se aplican de manera adecuada las medidas de higiene personal y desinfección de superficies. Estos hallazgos permiten

comprender mejor la dinámica microbiológica en los gimnasios y proporcionan un punto de partida para futuras investigaciones destinadas a evaluar factores de riesgo asociados a la transmisión de microorganismos en espacios de uso habitual.

- La presencia de bacterias asociadas a la microbiota humana y de especies consideradas oportunistas resalta la necesidad de fortalecer las estrategias de limpieza, desinfección y educación sanitaria dentro de los gimnasios, estos resultados destacan la importancia de implementar protocolos de higiene estandarizados que incluyan la desinfección periódica de los equipos, la disponibilidad de productos sanitizantes para los usuarios y la promoción de prácticas preventivas antes y después del uso de las instalaciones. Además, esta investigación aporta evidencia científica relevante para el ámbito de la salud pública y la microbiología ambiental, al generar información actualizada sobre la contaminación bacteriana en superficies de uso compartido en la ciudad de Cuenca. Y con los resultados obtenidos constituyen un punto de partida para el desarrollo de estudios posteriores que evalúen la eficacia de diferentes métodos de desinfección y de medidas preventivas en la reducción de la carga microbiana presente en ciertos entornos de uso compartido.

IV.2.- RECOMENDACIONES

- Establecer programas de monitoreo microbiológico periódico en instalaciones deportivas, con el propósito de evaluar la eficacia de las medidas de higiene implementadas y sea posible detectar oportunamente posibles incrementos en la contaminación bacteriana.
- Para investigaciones futuras se recomienda realizar análisis con un mayor número de muestras y superficies, incluyendo diferentes horarios y periodos de evaluación, para obtener una visión más amplia de la contaminación microbiológica presente en estos entornos.
- Complementar futuros estudios con técnicas microbiológicas y moleculares más avanzadas, que permitan identificar los microorganismos a nivel de especie y evaluar posibles perfiles de resistencia a los antimicrobianos.
- Extender las investigaciones a otros espacios deportivos y recreativos, con el fin de comparar los niveles de contaminación microbiológica y generar evidencia que contribuya al fortalecimiento de las medidas de bioseguridad en estos ambientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Neves Silva E, Ferreira dos Santos TC, Costa BE, Lopes Corrêa MS, Ferracioli Alvarenga GH, Aguiar É de F, et al. Incidência de Staphylococcus aureus em equipamentos de uma academia de atividades físicas em Alfenas – MG. Res Soc Dev. 2021;10(12):e15101220056–e15101220056. doi:10.33448/rsd-v10i12.20056

2. Bonilla Rivas JD. El mundo fitness a través de los Millennials y Centennials y cómo las IA serán el futuro de la industria [Internet]. 2023. Disponible en: https://digitk.areandina.edu.co/handle/areandina/5905

3. Restrepo Jarrín SM, Moya Erazo RS, Alba León FE, Torres Montaño AE, Paredes Tamayo IE. Plan de Negocios del Gimnasio Innovador Fitness Future, para el Año 2024 [Thesis] [Internet]. QUITO/UIDE/2024; 2024. Disponible en: https://repositorio.uide.edu.ec/handle/37000/7410

4. Soni J, Sinha S, Pandey R. Understanding bacterial pathogenicity: a closer look at the journey of harmful microbes. Front Microbiol. 2024;15:1370818. doi:10.3389/fmicb.2024.1370818 PubMed PMID: 38444801; PubMed Central PMCID: PMC10912505.

5. Zhang M, Ma Y, Xu H, Wang M, Li L. Surfaces of gymnastic equipment as reservoirs of microbial pathogens with potential for transmission of bacterial infection and antimicrobial resistance. Front Microbiol. 2023;14:1182594. doi:10.3389/fmicb.2023.1182594 PubMed PMID: 37152727; PubMed Central PMCID: PMC10157288.

6. Mukherjee N, Dowd SE, Wise A, Kedia S, Vohra V, Banerjee P. Diversity of Bacterial Communities of Fitness Center Surfaces in a U.S. Metropolitan Area. Int J Environ Res Public Health. 2014;11(12):12544–61. doi:10.3390/ijerph111212544 PubMed PMID: 25479039; PubMed Central PMCID: PMC4276630.

7. Fotyei G. Clinical Microbiology and Its Impact on Human Health. J Clin Microbiol Antimicrob. 2023;7(2):1–2. doi:10.35248/JCMA.23.7.156

8. Fernandes Almeida JG, Andrade de Azevedo C, da Silva Alencar GM, Silva Almeida Lobo LM, Vieira Moura ML. Análise microbiológica de ambiente de treino e a correlação com resistência bacteriana - Teresina, Piauí 2025. Res Soc Dev. 2025;14(11):e75141149981–e75141149981. doi:10.33448/rsd-v14i11.49981

9. Prevost P, Simms D. Fomites in the Fitness Center: Fitness Equipment Harbors Antibiotic Resistant and Pathogenic Bacteria — Journal of Young Investigators [Internet]. 2021. Disponible en: https://www.jyi.org/2021-february/2021/2/1/fomites-in-the-fitness-center-fitness-equipment-harbors-antibiotic-resistant-and-pathogenic-bacteria

10. Masiuk H, Wcisłek A, Jursa-Kulesza J. Determination of nasal carriage and skin colonization, antimicrobial susceptibility and genetic relatedness of Staphylococcus aureus isolated from patients with atopic dermatitis in Szczecin, Poland. BMC Infect Dis. 2021;21:701. doi:10.1186/s12879-021-06382-3 PubMed PMID: 34294061; PubMed Central PMCID: PMC8299601.

11. Chavez V. infobae [Internet]. 2024. Las máquinas de los gimnasios tienen más bacterias que un inodoro. Disponible en: https://www.infobae.com/america/ciencia-america/2024/10/30/las-maquinas-de-los-gimnasios-tienen-mas-bacterias-que-un-inodoro/

12. Larrea Reyes MN. "Factores que inciden en la productividad de emprendimientos deportivos. Gimnasio DORIAN en Azogues y Cuenca" [Internet]. 2023. Disponible en: https://dspace.ucacue.edu.ec/handle/ucacue/14856

13. Vintimilla Rojas D, Sánchez Peralta N, Camacho De La Torre K, Pulla Marín LR. Consumo de suplementos nutricionales en adultos jóvenes que acuden a gimnasios de la ciudad de Cuenca en el período Julio - Diciembre de 2021. Rev Ecuat Nutr Clínica Metab [Internet]. 2022;4(1). Disponible en: https://senpeazuay.org.ec/ojs/index.php/renc/article/view/28

14. Organization of Teratology Information Specialists (OTIS). Staphylococcus aureus (infección por estafilococo). En: MotherToBaby | Fact Sheets [Internet]. Brentwood (TN): Organization of Teratology Information Specialists (OTIS); 2024. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK582961/ PubMed PMID: 35952234.

15. Taylor TA, Tobin EH, Unakal CG. Staphylococcus aureus Infection. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/ PubMed PMID: 28722898.

16. Lee E, Anjum F. Staphylococcus epidermidis Infection. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563240/ PubMed PMID: 33085387.

17. Toscano Muñoz LE. Análisis del comportamiento del consumidor de productos Fitness y Deportivos en el Centro Histórico de la ciudad de Quito. [bachelorThesis] [Internet]. 2020. Disponible en: http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/18788

18. Baque Paredes EDP. Diseño del perfil del consumidor fitness en la ciudad de Guayaquil en el año 2020 [Internet]. 2020. Disponible en: http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/52588

19. CDC: Centers for Disease Control and Prevention. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) [Internet]. 2025 [citado el 5 de agosto de 2026]. Athletic Facilities: MRSA Prevention and Control. Disponible en: https://www.cdc.gov/mrsa/prevention/coaches-athletic-directors.html

20. Boonrattanakij N, Yomchinda S, Lin FJ, Bellotindos LM, Lu MC. Investigation and disinfection of bacteria and fungi in sports fitness center. Environ Sci Pollut Res Int. 2021;28(37):52576–86. doi:10.1007/s11356-021-14323-5 PubMed PMID: 34018112; PubMed Central PMCID: PMC8137265.

21. Maurice Bilung L, Tahar AS, Kira R, Mohd Rozali AA, Apun K. High Occurrence of Staphylococcus aureus Isolated from Fitness Equipment from Selected Gymnasiums. J Environ Public Health. 2018;2018(1):4592830. doi:10.1155/2018/4592830

22. Rodrigues J, Guilhon K, Santos D, Furtado H, Gomes P, Pereira L, et al. Análise microbiológica e eficiência da desinfecção com álcool 70% em aparelhos de. Conjecturas. 2022;22:122–34. doi:10.53660/CONJ-1658-2G13B

23. Moreno DR. EFETIVIDADE DOS ANTI-SÉPTICOS USADOS EM ACADEMIAS DE GINÁSTICA NO MUNICÍPIO DE TRÊS CORAÇÕES - MG. Rev Vale. 2021;20(2). doi:10.5892/ruvrd.v20i2.6276

24. Melo Vilhena AI, Tayara de Oliveira Alves J, Francisley de Paiva L. Incidência e perfil de susceptibilidade antimicrobiana de Staphylococcus aureus isolados de equipamentos de uma academia esportiva na cidade de Pouso Alegre, MG. Res Soc Dev. 2023;12(14):e52121444489–e52121444489. doi:10.33448/rsd-v12i14.44489

25. Zúñiga Carrasco IR, Miliar De Jesús R. FÓMITES NOSOCOMIALES: Un área de oportunidad para control de infecciones. Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría. 2024;36(148):27–31.

26. Guleria A. Spread of infectious diseases by microorganisms present in fomites. World J Adv Res Rev. 2024;24(1):1589–601. doi:10.30574/wjarr.2024.24.1.3161

27. Levinson W. Microbiología e inmunología médicas. 8a ed. Madrid: McGraw-Hill; 2013.

28. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaüer M. Microbiología médica. 5a ed. Madrid: Elsevier; 2006.

29. González Meléndez R, Elizalde Cuevas B, Cortés Cruz ME, Orduña Sánchez M. Las tinciones básicas en el Laboratorio de Microbiología: Un enfoque gráfico. UNAM, FES Zaragoza; 2020.

30. Brooks GF, Butel JS, Carroll KC, Morse SA, Mietzner TA. JAWETZ, MELNICK Y ADELBERG Microbiología médica. 25a ed. Madrid: McGraw-Hill; 2011.

31. Wißmann JE, Kirchhoff L, Brüggemann Y, Todt D, Steinmann J, Steinmann E. Persistence of Pathogens on Inanimate Surfaces: A Narrative Review. Microorganisms. 2021;9(2):343. doi:10.3390/microorganisms9020343 PubMed PMID: 33572303; PubMed Central PMCID: PMC7916105.

32. Artasensi A, Mazzotta S, Fumagalli L. Back to Basics: Choosing the Appropriate Surface Disinfectant. Antibiotics. 2021;10(6):613. doi:10.3390/antibiotics10060613 PubMed PMID: 34063833; PubMed Central PMCID: PMC8224088.

33. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, National Academy of Engineering, Division on Engineering and Physical Sciences, Health and Medicine Division, Board on Infrastructure and the Constructed Environment, et al. Microbiomes of the Built Environment. En: Microbiomes of the Built Environment [Internet]. National Academies Press (US); 2017 [citado el 1 de agosto de 2026]. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK458819/

34. Sizar O, Leslie SW, Unakal CG. Gram-Positive Bacteria. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [citado el 1 de agosto de 2026]. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470553/ PubMed PMID: 29261915.

35. Ye Z, Huang J, Liang Z, Liu S, Lei J, Deng S, et al. A case study showing highly traceable sources of bacteria on surfaces of university buildings. Ecotoxicol Environ Saf. 2024;281:116632. doi:10.1016/j.ecoenv.2024.116632

36. An XL, Xu JX, Xu MR, Zhao CX, Li H, Zhu YG, et al. Dynamics of Microbial Community and Potential Microbial Pollutants in Shopping Malls. mSystems. 2023;8(1):e00576-22. doi:10.1128/msystems.00576-22 PubMed PMID: 36602317; PubMed Central PMCID: PMC9948725.

37. Limper HM, Sier A, Warye K, Spencer M, Graves P, Edmiston CE. A Review of the Evidence on the Role of Floors and Shoes in the Dissemination of Pathogens in a Healthcare Setting. Surg Infect. 2024;25(1):46–55. doi:10.1089/sur.2023.194 PubMed PMID: 38181189.

38. Rodriguez D, Einarsson B, Carpio A. Biofilm growth on rugose surfaces. Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys. 2012;86(6 Pt 1):061914. doi:10.1103/PhysRevE.86.061914 PubMed PMID: 23367982.

39. Santos Batista D, Sobrinho Ananias BC, Vidal de Oliveira TV, Nascimento TC, Alvim de Paula VA, de Oliveira AC, et al. Evaluating Gym Hygiene Practices and Microbial Contamination Using Protein and Fluorescence Testing

Approaches. J Hum Environ Health Promot. 2024;10(3):126–31. doi:10.61186/jhehp.10.3.126

40. Minooee A, Wang J, Gupta GK. Sports: The Infectious Hazards. Microbiol Spectr. 2015;3(5):10.1128/microbiolspec.iol5-0014–2015. doi:10.1128/microbiolspec.iol5-0014-2015

41. Maphossa V, Langa JC, Simbine S, Maússe FE, Kenga D, Relvas V, et al. Environmental bacterial and fungal contamination in high touch surfaces and indoor air of a paediatric intensive care unit in Maputo Central Hospital, Mozambique in 2018. Infect Prev Pract. 2022;4(4):100250. doi:10.1016/j.infpip.2022.100250 PubMed PMID: 36204713; PubMed Central PMCID: PMC9530480.

42. Mihajlovski K, Buttner MP, Cruz P, Labus B, St. Pierre Schneider B, Detrick E. SARS-CoV-2 surveillance with environmental surface sampling in public areas. PLOS ONE. 2022;17(11):e0278061. doi:10.1371/journal.pone.0278061 PubMed PMID: 36417446; PubMed Central PMCID: PMC9683569.

43. Ministerio de Salud de Perú. Resolución Ministerial N.° 461-2007-MINSA [Internet]. Perú; 2007. Disponible en: https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/249695-461-2007-minsa

44. THE INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. THE INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO [Internet]. Suiza; 2018. ISO 18593:2018 -Microbiología de la cadena alimentaria: métodos horizontales para la toma de muestras de superficie. Disponible en: https://www.iso.org/cms/ render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/06/49/64950.html

45. Cerna-Cardona J, Campos-Jiménez R, Bello-López JM, Loyola-Cruz MA, Sosa-Hernández Ó, Cruz-Cruz C, et al. Influencia de la técnica de muestreo en los resultados microbiológicos obtenidos de endoscopios flexibles reprocesados. Rev Endosc. 2023;34(4):103–10. doi:10.24875/END.23000009

46. Nocera FP, Ferrara G, Scandura E, Ambrosio M, Fiorito F, De Martino L. A Preliminary Study on Antimicrobial Susceptibility of Staphylococcus spp. and Enterococcus spp. Grown on Mannitol Salt Agar in European Wild Boar (Sus scrofa) Hunted in Campania Region—Italy. Anim Open Access J MDPI. 2021;12(1):85. doi:10.3390/ani12010085 PubMed PMID: 35011191; PubMed Central PMCID: PMC8749723.

47. Sandoval Pérez NG. Monitoreo microbiológico ambiental del área de farmacotecnia en el Hospital Pediátrico Baca Ortiz. [Internet]. 2025 [citado el 1 de agosto de 2026]. Disponible en: https://www.dspace.uce.edu.ec/entities/publication/www.dspace.uce.edu.ec

48. Becker K. Detection, Identification and Diagnostic Characterization of the Staphylococcal Small Colony-Variant (SCV) Phenotype. Antibiotics. 2023;12(9):1446. doi:10.3390/antibiotics12091446 PubMed PMID: 37760742; PubMed Central PMCID: PMC10525764.

49. Fernandes Queiroga Moraes G, Cordeiro LV, de Andrade Júnior FP. Principales métodos de laboratorio utilizados para el aislamiento e identificación de Staphylococcus spp. Rev Colomb Cienc Quím - Farm. 2021;50(1):5–28. doi:10.15446/rcciquifa.v50n1.95444

50. Wang H, Zhang W, Tang YW. Clinical microbiology in detection and identification of emerging microbial pathogens: past, present and future. Emerg Microbes Infect. 2022;11(1):2579–89. doi:10.1080/22221751.2022.2125345 PubMed PMID: 36121351; PubMed Central PMCID: PMC9639501.

51. Tripathi N, Zubair M, Sapra A. Gram Staining. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 [citado el 1 de agosto de 2026]. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562156/ PubMed PMID: 32965827.

52. Uzuriaga M, Guillén-Grima F, Rua M, Leiva J, Yuste JR. Accelerated Bacterial Identification with MALDI-TOF MS Leads to Fewer Diagnostic Tests and Cost Savings. Antibiotics. 2024;13(12):1163. doi:10.3390/antibiotics13121163 PubMed PMID: 39766553; PubMed Central PMCID: PMC11672624.

53. Chen XF, Hou X, Xiao M, Zhang L, Cheng JW, Zhou ML, et al. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) Analysis for the Identification of Pathogenic Microorganisms: A Review. Microorganisms. 2021;9(7):1536. doi:10.3390/microorganisms9071536 PubMed PMID: 34361971; PubMed Central PMCID: PMC8304613.

54. Vijayakumar T, Divya B, Vasanthi V, Narayan M, Kumar AR, Krishnan R. Diagnostic Utility of Gram Stain for Oral Smears – A Review. J Microsc Ultrastruct. 2023;11(3):130–4. doi:10.4103/jmau.jmau_108_22 PubMed PMID: 38025180; PubMed Central PMCID: PMC10679832.

55. Ahmad Paray A, Singh M, Amin Mir M, Kaur A. Gram Staining: A Brief Review. International Journal of Research and Review. 2023;10(9):1–6. doi:https://doi.org/10.52403/ijrr.20230934

56. Ito H, Tomura Y, Oshida J, Fukui S, Kodama T, Kobayashi D. The role of gram stain in reducing broad-spectrum antibiotic use: A systematic literature review and meta-analysis. Infect Dis Now. 2023;53(6):104764. doi:10.1016/j.idnow.2023.104764

57. Mortier T, Wieme AD, Vandamme P, Waegeman W. Bacterial species identification using MALDI-TOF mass spectrometry and machine learning

techniques: A large-scale benchmarking study. Comput Struct Biotechnol J. 2021;19:6157–68. doi:10.1016/j.csbj.2021.11.004 PubMed PMID: 34938408; PubMed Central PMCID: PMC8649224.

58. Calderaro A, Chezzi C. MALDI-TOF MS: A Reliable Tool in the Real Life of the Clinical Microbiology Laboratory. Microorganisms. 2024;12(2):322. doi:10.3390/microorganisms12020322 PubMed PMID: 38399726; PubMed Central PMCID: PMC10892259.

59. Oviaño M, Rodríguez-Sánchez B. MALDI-TOF mass spectrometry in the 21st century clinical microbiology laboratory. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2021;39(4):192–200. doi:10.1016/j.eimc.2020.02.027 PubMed PMID: 32345492.

60. Oviaño García M, Rodríguez Sánchez B, Caballero Pérez J de D, Muñoz Bellido JL. Aplicaciones de la espectrometría de masas MALDI-TOF en Microbiología Clínica. En: Procedimientos en Microbiología Clínica [Internet]. 2019. Disponible en: https://seimc.org/wp-content/uploads/2025/06/seimc-procedimientomicrobiologia65.pdf

61. Haider A, Ringer M, Kotroczó Z, Mohácsi-Farkas C, Kocsis T. The Current Level of MALDI-TOF MS Applications in the Detection of Microorganisms: A Short Review of Benefits and Limitations. Microbiol Res. 2023;14(1):80–90. doi:10.3390/microbiolres14010008

62. Camacho Silvas LA. Resistencia bacteriana, una crisis actual. Rev Esp Salud Pública. 2025;97:e202302013.

63. Katzenberger RH, Rösel A, Vonberg RP. Bacterial survival on inanimate surfaces: a field study. BMC Res Notes. 2021;14(1):97. doi:10.1186/s13104-021-05492-0

64. Parry MF, Sestovic M, Renz C, Pangan A, Grant B, Shah AK. Environmental cleaning and disinfection: Sustaining changed practice and improving quality in the community hospital. Antimicrob Steward Healthc Epidemiol ASHE. 2022;2(1):e113. doi:10.1017/ash.2022.257 PubMed PMID: 36483421; PubMed Central PMCID: PMC9726550.

65. CDC: Centers for Disease Control and Prevention. Infection Control [Internet]. 2024. Factors Affecting the Efficacy of Disinfection and Sterilization. Disponible en: https://www.cdc.gov/infection-control/hcp/disinfection-sterilization/efficacy-factors.html

66. CDC: Centers for Disease Control and Prevention. Water, Sanitation, and Environmentally Related Hygiene (WASH) [Internet]. 2025 [citado el 1 de agosto de 2026]. Cleaning and Disinfecting. Disponible en: https://www.cdc.gov/hygiene/cleaning-disinfecting/index.html

67. Viegas C, Peixoto C, Gomes B, Dias M, Cervantes R, Pena P, et al. Assessment of Portuguese fitness centers: Bridging the knowledge gap on harmful microbial contamination with focus on fungi. Environ Pollut. 2024;350:123976. doi:10.1016/j.envpol.2024.123976

68. Loo LH, Ong CCH, Farhanah S, Linn KZ, Huan X, Marimuthu K. SG-APSIC1099: Scoping review of cleaning of high-touch surfaces (HTSs) in inpatient wards. Antimicrob Steward Healthc Epidemiol ASHE. 2023;3(Suppl 1):s12. doi:10.1017/ash.2023.37 PubMed PMID: null; PubMed Central PMCID: PMC10571178.

69. Jiménez Rojas A, Valderrama Beltrán SL, Montañez Puentes ZM, Ortiz Aroca JA, Ordóñez T, Correa V, et al. Limpieza y desinfección de equipos y superfi cies ambientales en Instituciones Prestadoras de Servicios de Salud [Internet]. Disponible en: https://acin.org/images/guias/LIMPIEZA_Y_DESIN_2022_2_ACINcap_central_SDS.pdf

70. Liang Z, Dong CB, Liang H, Zhen YX, Zhou RL, Han YF, et al. A microbiome study reveals the potential relationship between the bacterial diversity of a gymnastics hall and human health. Sci Rep. 2022;12:5663. doi:10.1038/s41598-022-09355-x PubMed PMID: 35383217; PubMed Central PMCID: PMC8983745.

71. Flouchi R, Elmniai A, El Far M, Touzani I, El Hachlafi N, Fikri-Benbrahim K. Microbiological Monitoring of the Environment Using the “Association Rules” Approach and Disinfection Procedure Evaluation in a Hospital Center in Morocco. J Environ Public Health. 2021;2021:7682042. doi:10.1155/2021/7682042 PubMed PMID: 34285698; PubMed Central PMCID: PMC8275422.

72. Loera Almuina ID, González Chávez SA. ¿Qué nos revela la tinción de Gram? Explora el microcosmos bacteriano. PaCiencia Pa´Todos. 2024;(16):49–53.

73. Kiborus LJ, Altheide ST, Marion JW. Characterization of the Prevalence and Antibiotic Resistance of Staphylococcus Species in an Exercise Facility in Central Kentucky, USA. Hygiene. 2025;5(1):2. doi:10.3390/hygiene5010002

74. Martens A, Schauer M, Motevalli M, Mair S, König B. Microbial Contamination of Gym Equipment: Diversity Patterns, Temporal Dynamics, Staphylococcus Hotspots, and Device-Level Risk Indices. Pathogens. 2026;15(7):707. doi:10.3390/pathogens15070707 PubMed PMID: 42515034; PubMed Central PMCID: PMC13415148.

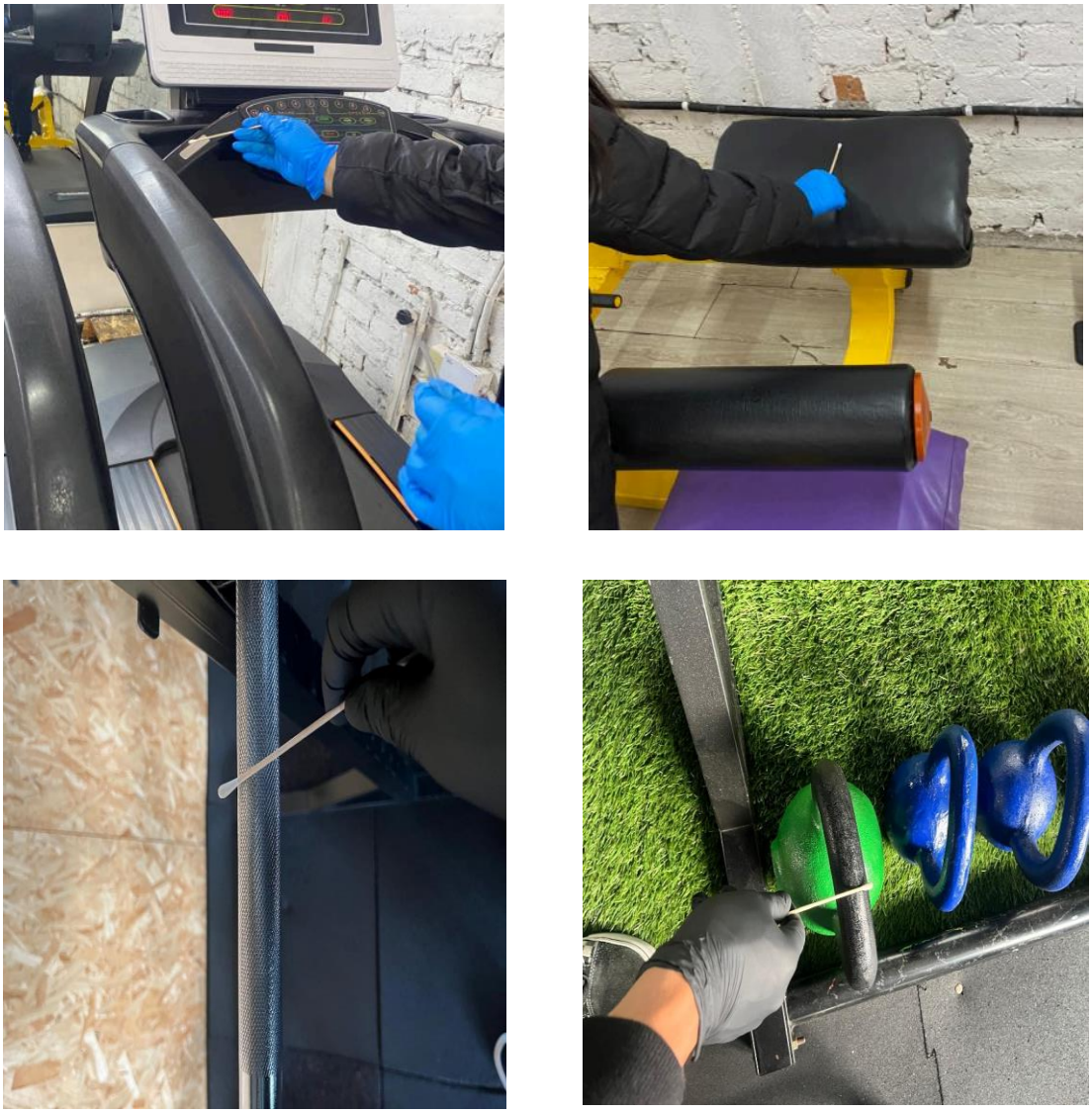
75. Turkstani MA, Sultan RMS, Al-Hindi RR, Ahmed MMM. Molecular identification of microbial contaminations in the fitness center in Makkah region. Biosci J. 2021;37:e37020–e37020. Located at: Saudi Arabia; Contemporary. doi:10.14393/BJ-v37n0a2021-50400

76. Yazir C, Sultanoglu N, Guvenir M, Hurdoganoglu U, Yavuz HU, Suer K. Infectious disease agent surveillance in fitness centers in northern cyprus: is methicillin-resistant Staphylococcus aureus (mrsa) infection a threat? Biosci J. 2024;40:e40035–e40035. Located at: Chipre; Contemporary. doi:10.14393/BJ-v40n0a2024-69905

77. Banerjee G, Banerjee P. Whole genome sequence of multidrug-resistant Staphylococcus haemolyticus and Enterococcus faecalis isolates from public gymnasium equipment reveals evolving infection potential and resistance. PLOS One. 2025;20(10):e0324894. doi:10.1371/journal.pone.0324894 PubMed PMID: 41160566; PubMed Central PMCID: PMC12571285.

ANEXOS

Anexo 1. Toma de muestras de diferentes equipos



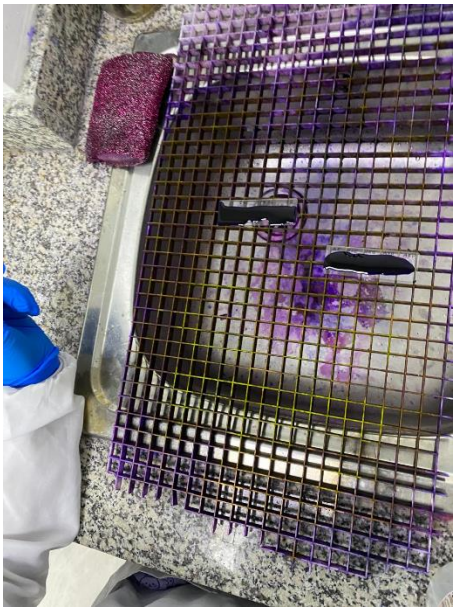
Fuente: Elaboración propia

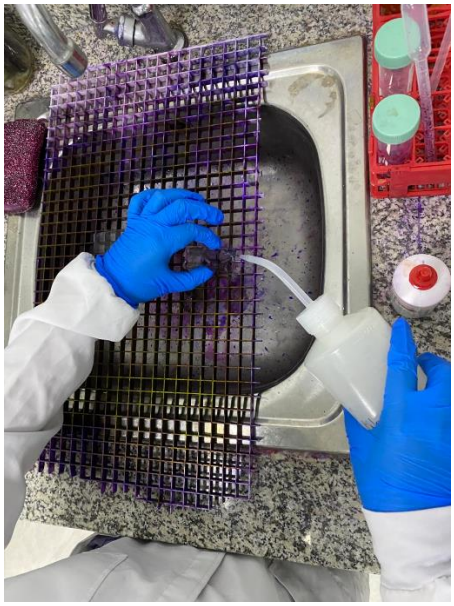
Anexo 2. Preparación de medios de Cultivo



Fuente: Elaboración propia

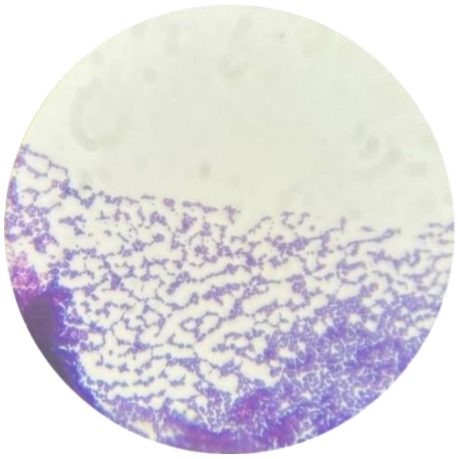
Anexo 3. Tinción de gram

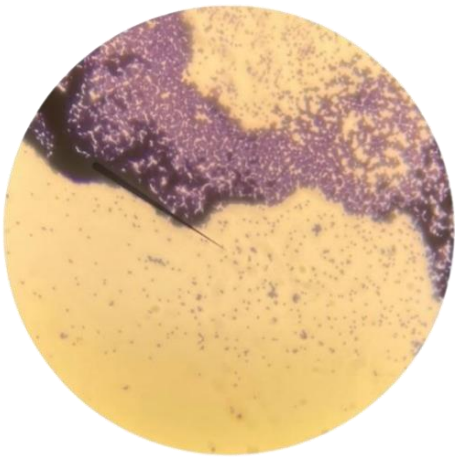


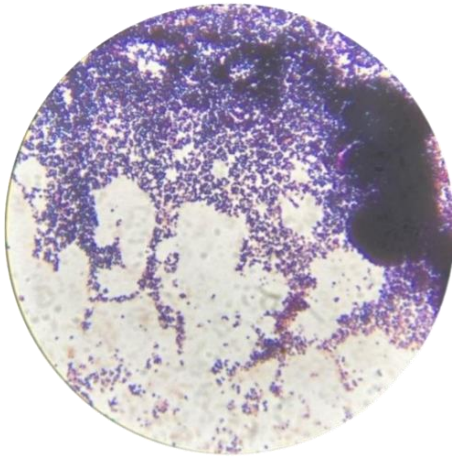


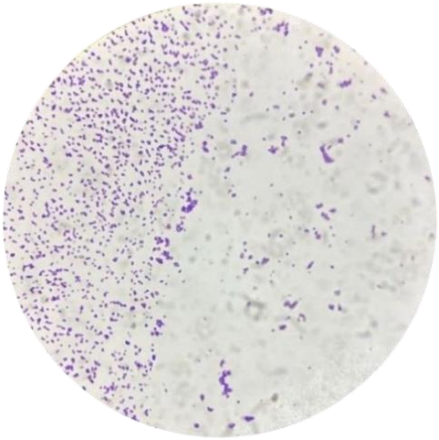
Fuente: Elaboración propia

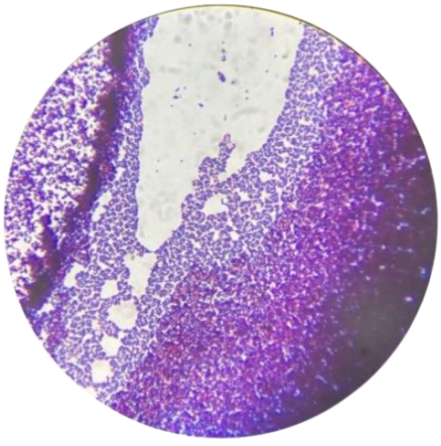
Anexo 4. Observación microscópica de bacterias Gram positivas mediante tinción de Gram

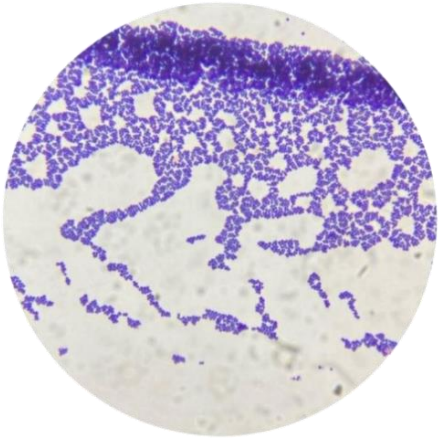


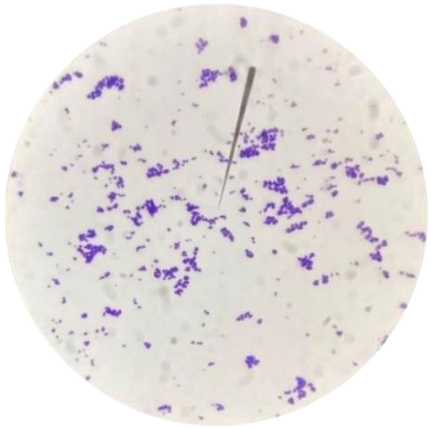


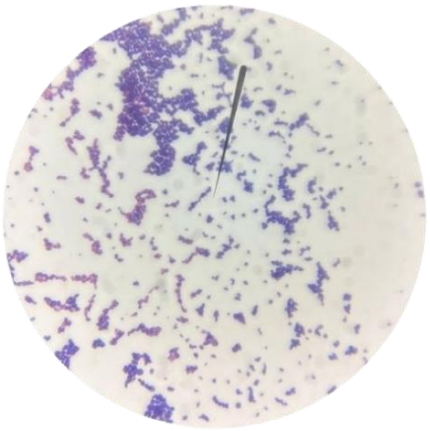


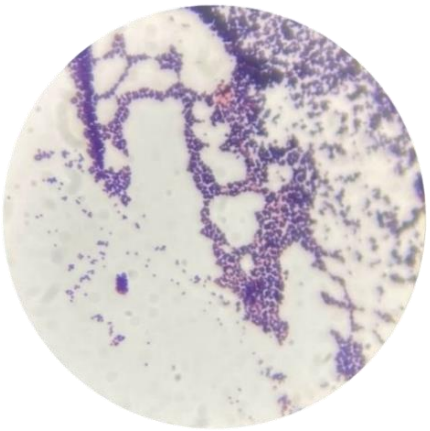


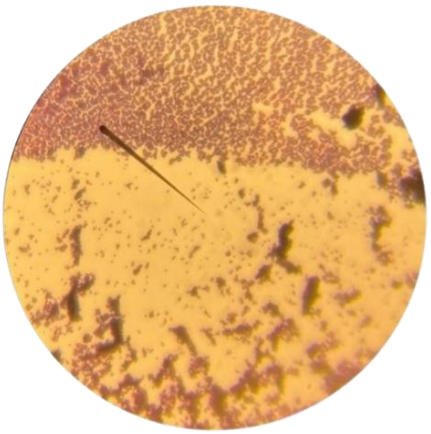


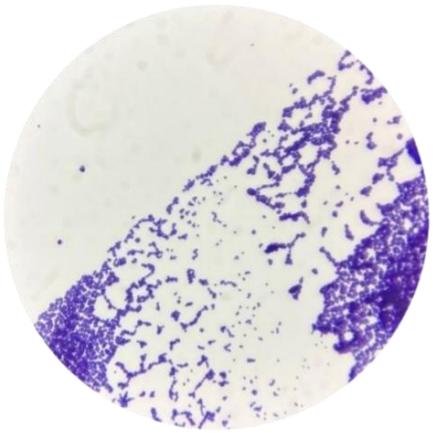


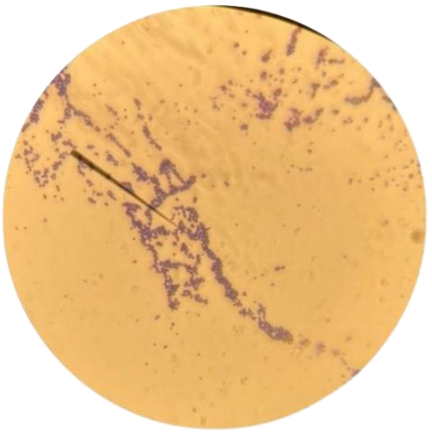


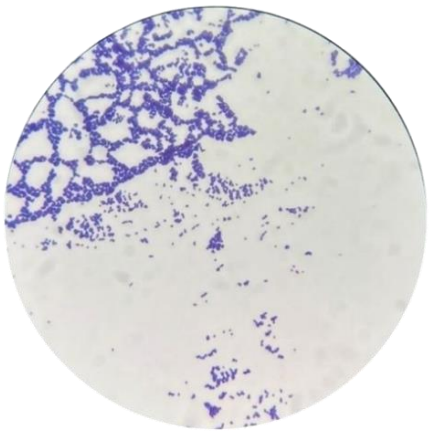


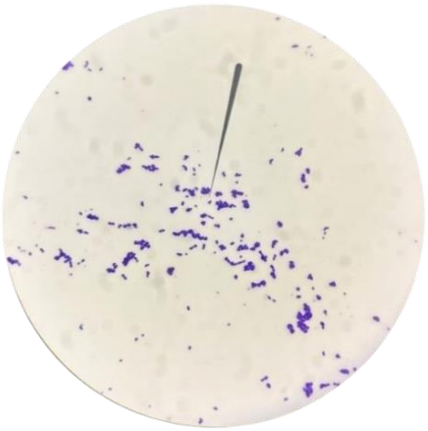


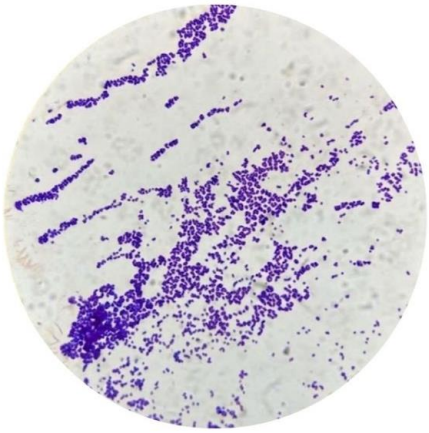


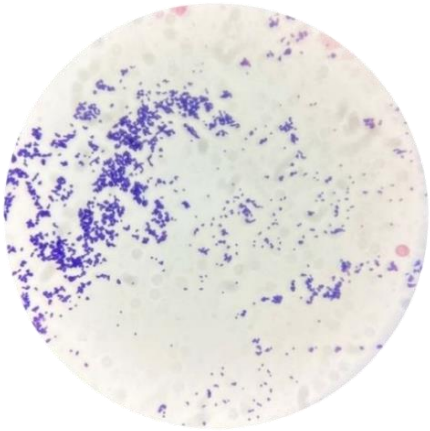


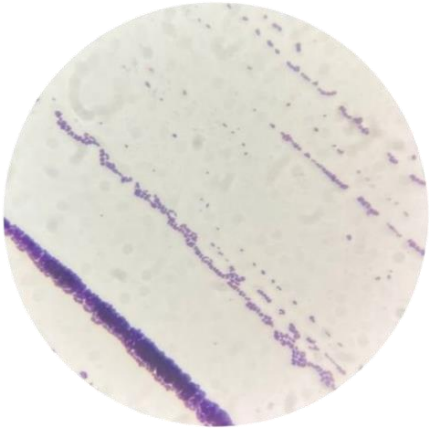


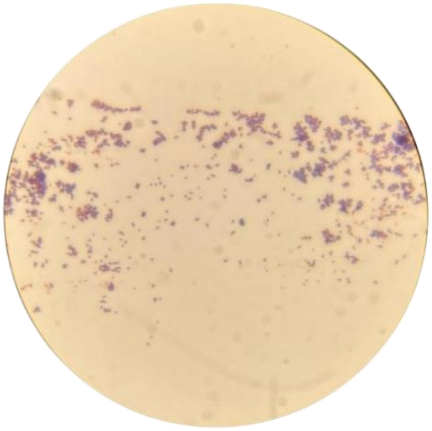


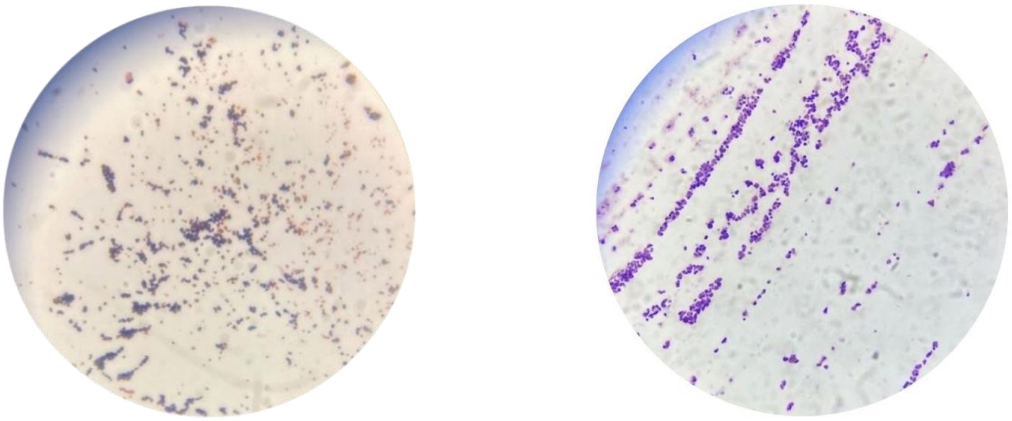






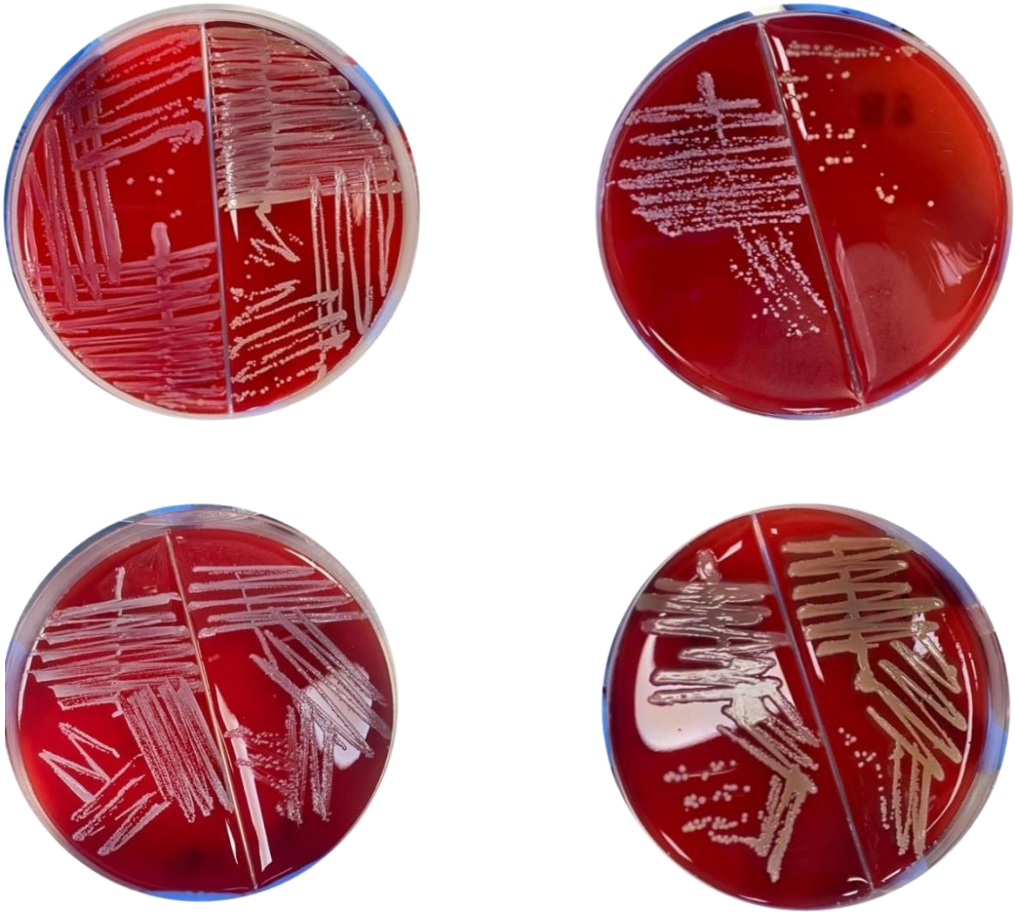


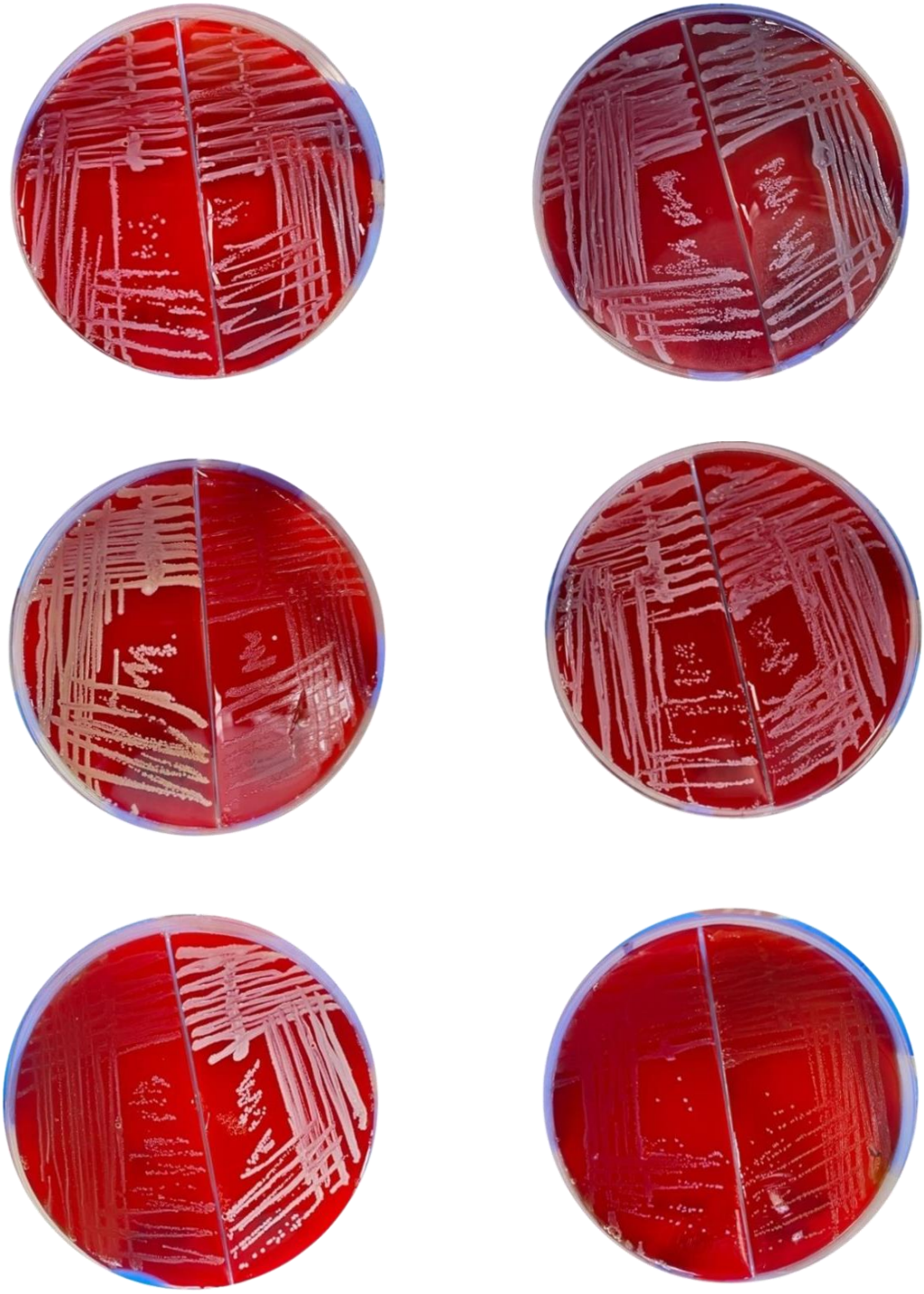




Fuente: Elaboración propia

Anexo 5. Colonias bacterianas obtenidas mediante el segundo aislamiento en agar sangre de las 20 placas seleccionadas





Fuente: Elaboración propia

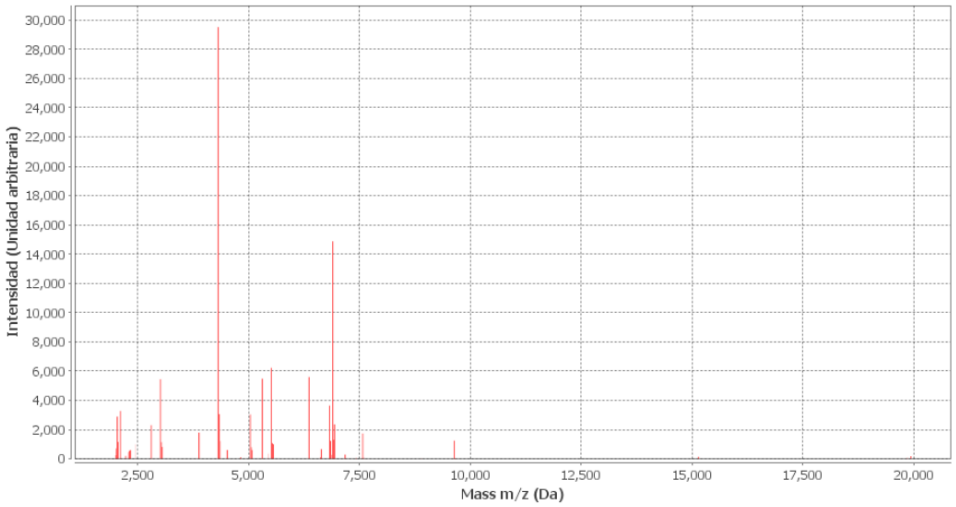
Anexo 6. Anexo X. Reporte de identificación bacteriana mediante MALDI-TOF emitido por el laboratorio especializado

Número de identificaciones: 1

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adquisición/Cálculo
	J3	25/09/25 18:06	Staphylococcus aureus		99.9		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**

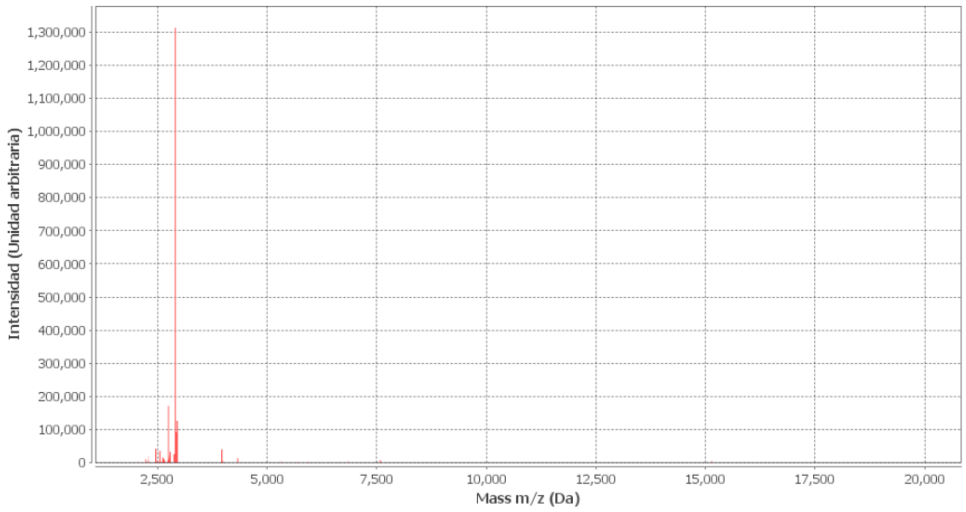


Número de identificaciones: 1

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adquisición/Cálculo
	K1	25/09/25 18:06	Staphylococcus simulans		99.9		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**

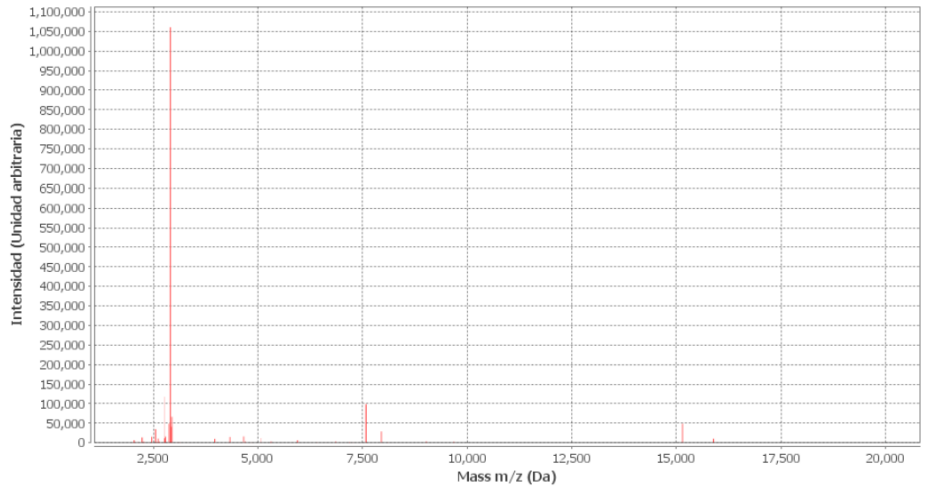


Número de identificaciones: 2

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adquisición/Cálculo
	J4	25/09/25 18:06	Staphylococcus aureus		50.0		
	J4	25/09/25 18:06	Staphylococcus simulans		50.0		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**

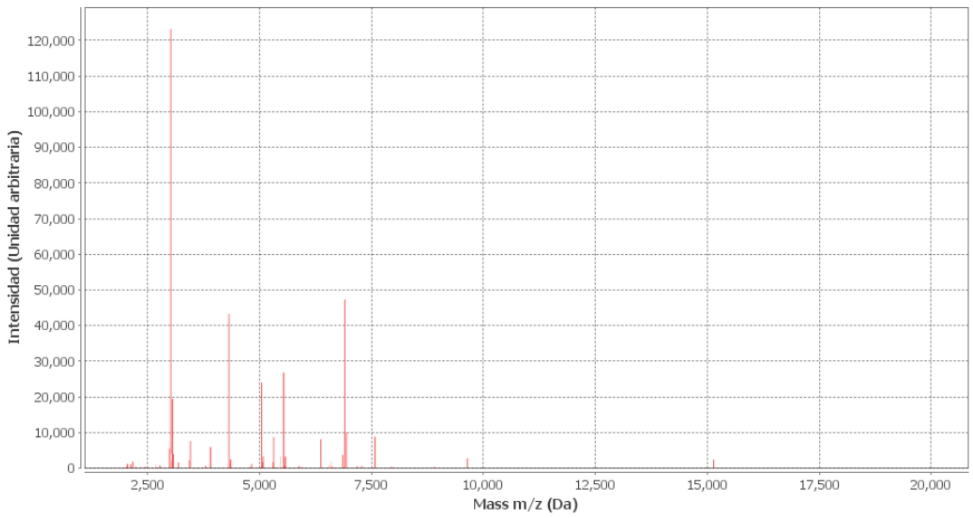


Número de identificaciones: 1

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adquisición/Cálculo
	I1	25/09/25 18:06	Staphylococcus aureus		99.9		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**

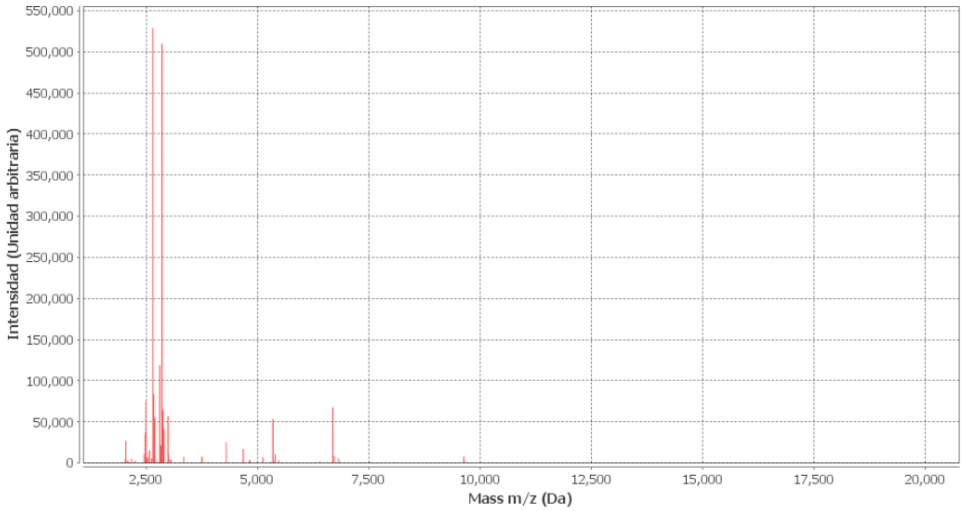


Número de identificaciones: 1

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adquisición/Cálculo
	C4	27/09/25 13:36	Staphylococcus epidermidis		99.9		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**

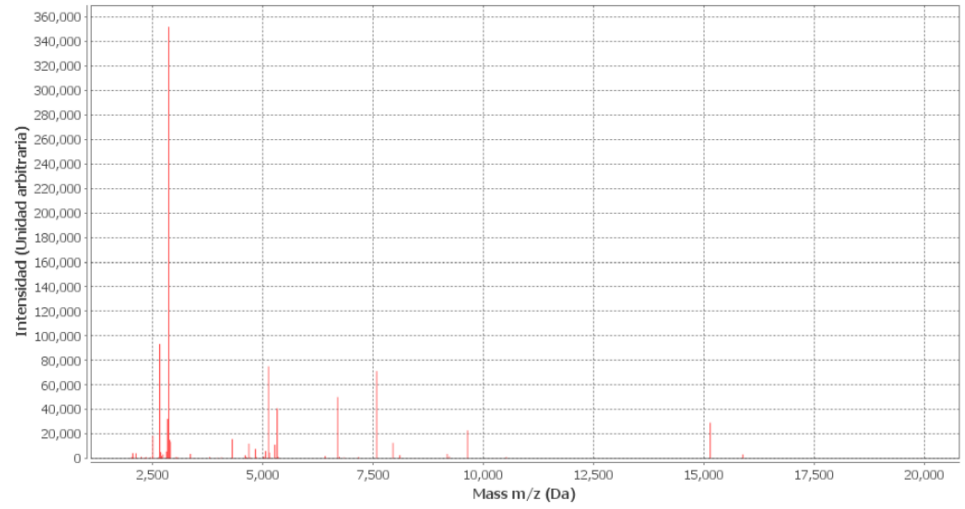


Número de identificaciones: 1

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adquisición/Cálculo
	I4	25/09/25 18:06	Staphylococcus epidermidis		99.9		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**

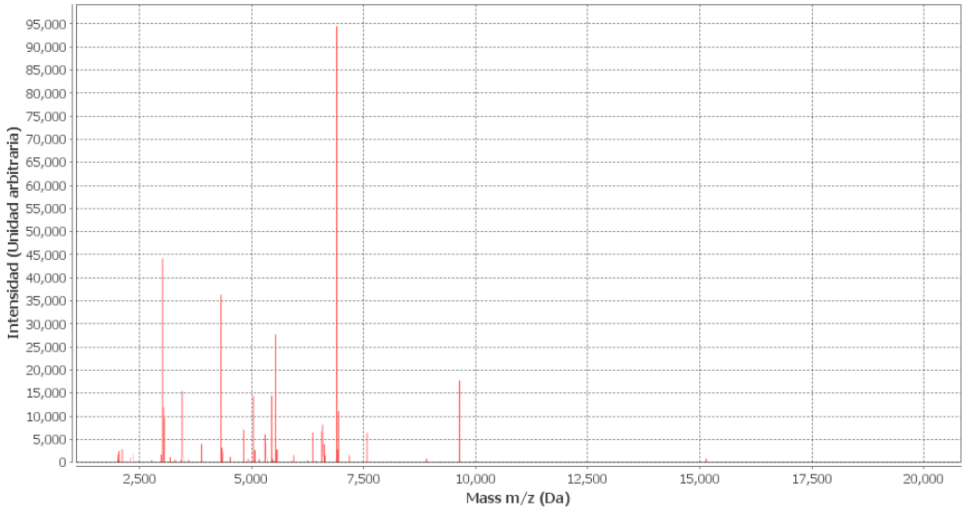


Número de identificaciones: 1

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adquisición/Cálculo
	J1	25/09/25 18:06	Staphylococcus aureus		99.9		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**

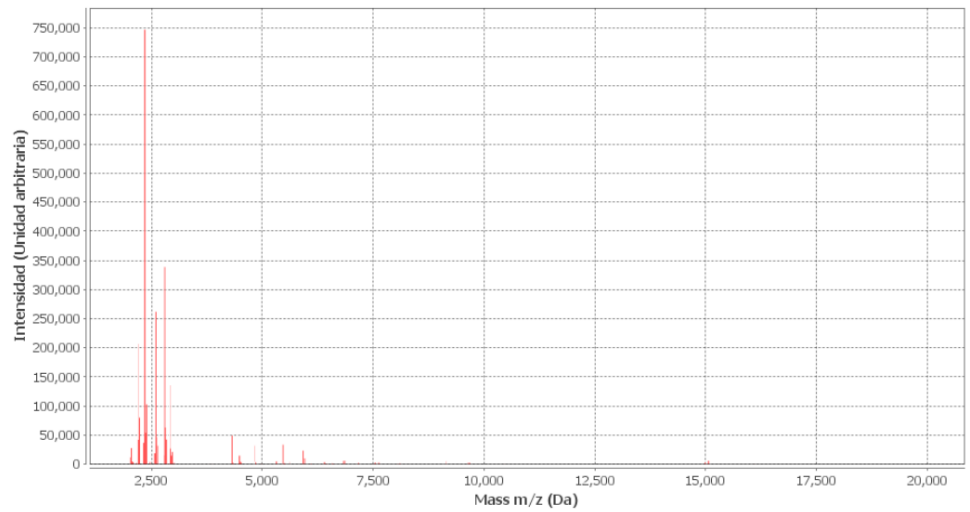


Número de identificaciones: 1

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adquisición/Cálculo
	B4	27/09/25 13:36	Staphylococcus warneri		99.9		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**

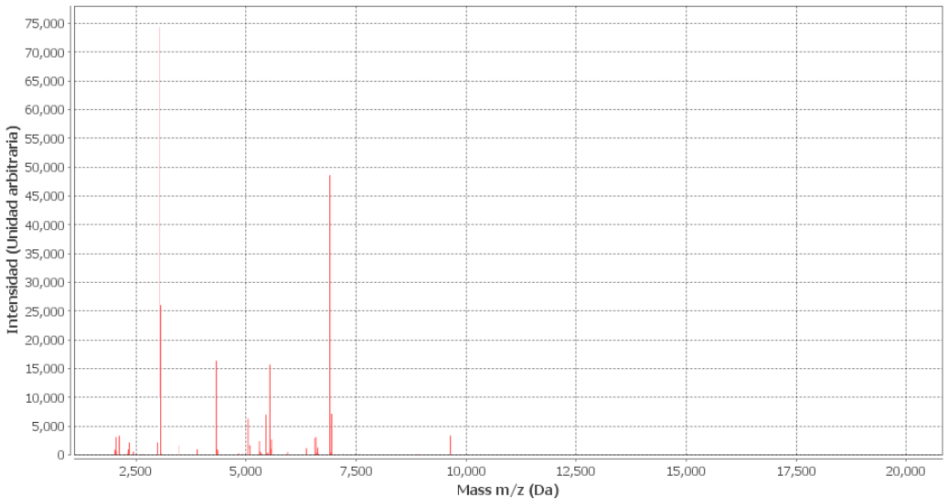


Número de identificaciones: 1

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adqusición/Cálculo
	I2	25/09/25 18:06	Staphylococcus aureus		99.9		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**

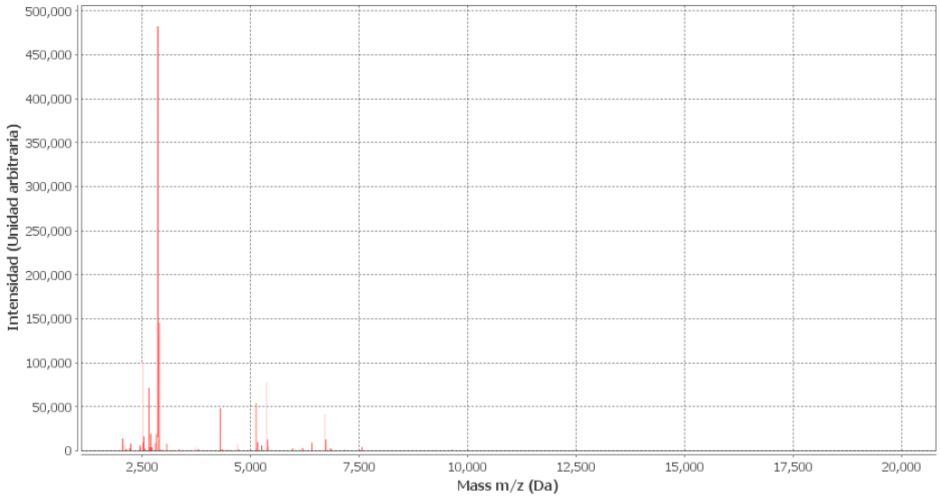


Número de identificaciones: 1

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adqusición/Cálculo
	C3	27/09/25 13:36	Staphylococcus epidermidis		99.9		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**

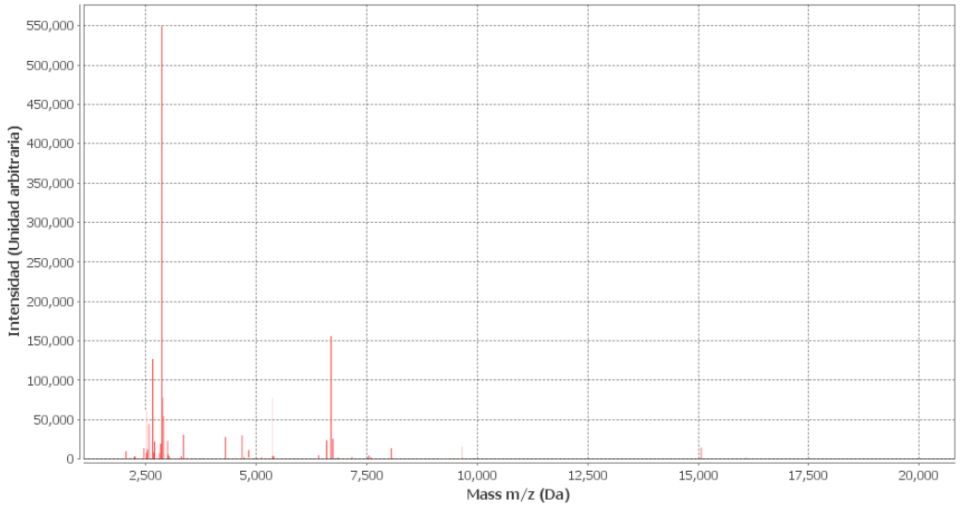


Número de identificaciones: 1

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adqusición/Cálculo
	C1	27/09/25 13:36	Staphylococcus epidermidis		99.9		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**

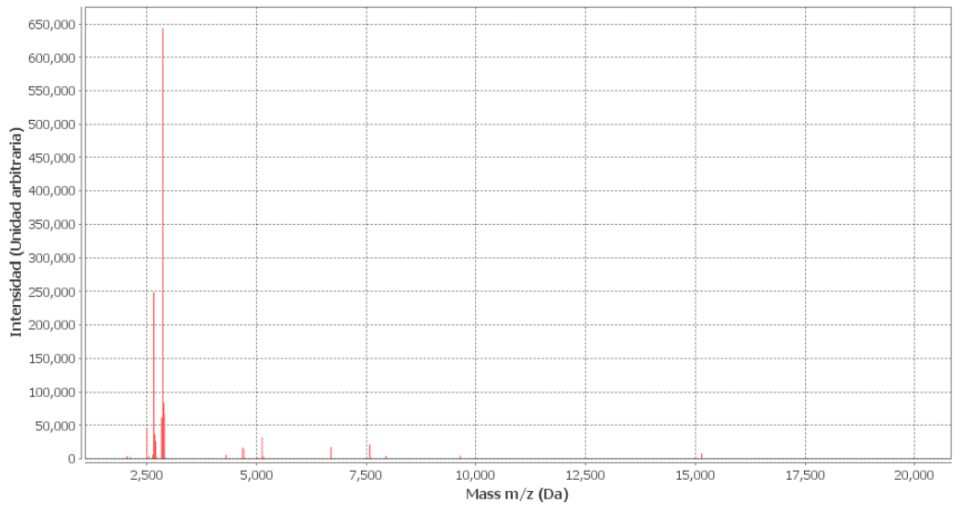


Número de identificaciones: 1

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adqusición/Cálculo
	K2	25/09/25 18:06	Staphylococcus epidermidis		99.9		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**

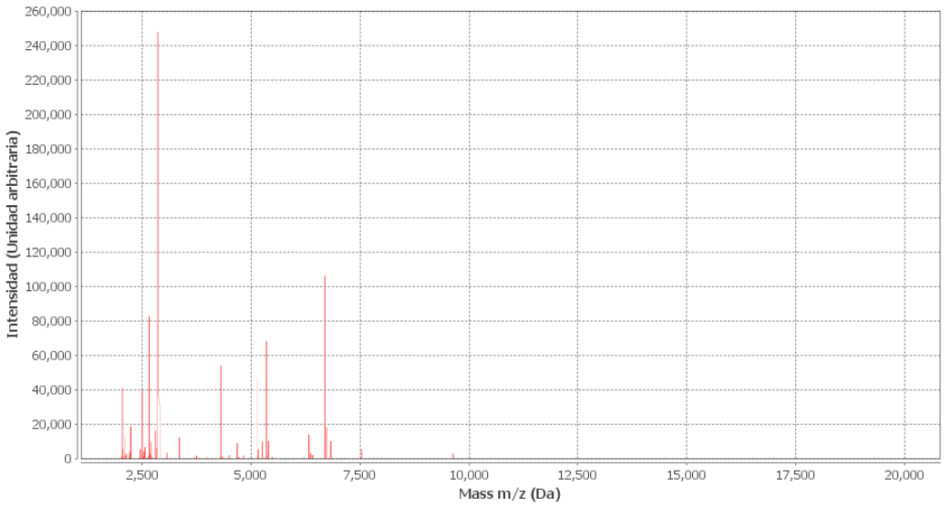


Número de identificaciones: 1

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adqusición/Cálculo
	C2	27/09/25 13:36	Staphylococcus epidermidis		99.9		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**

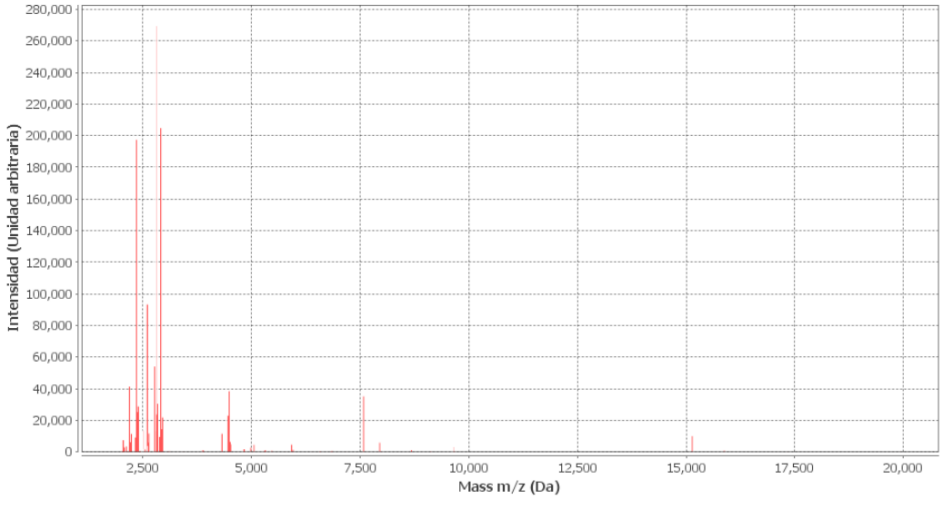


Número de identificaciones: 1

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adqusición/Cálculo
	J2	25/09/25 18:06	Staphylococcus warneri		99.9		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**

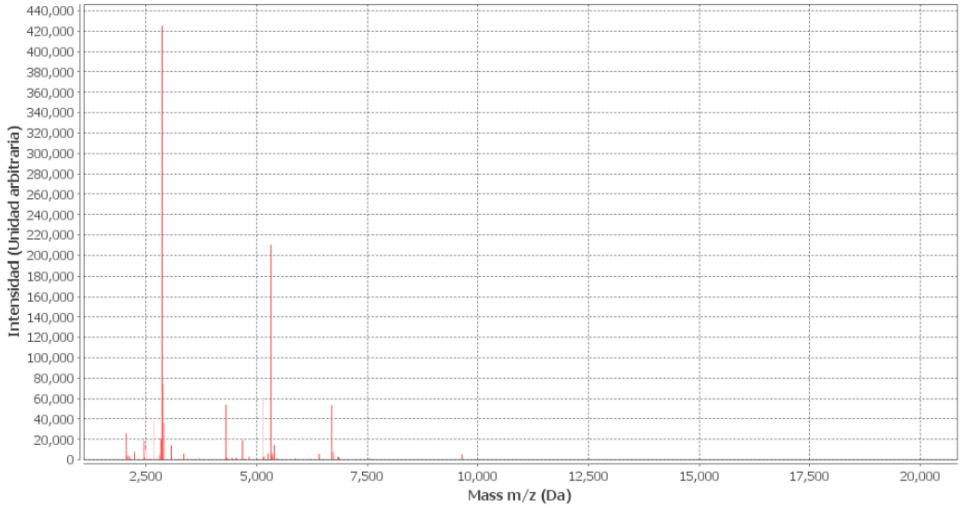


Número de identificaciones: 1

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adquisición/Cálculo
	D1	27/09/25 13:36	Staphylococcus epidermidis		99.9		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**

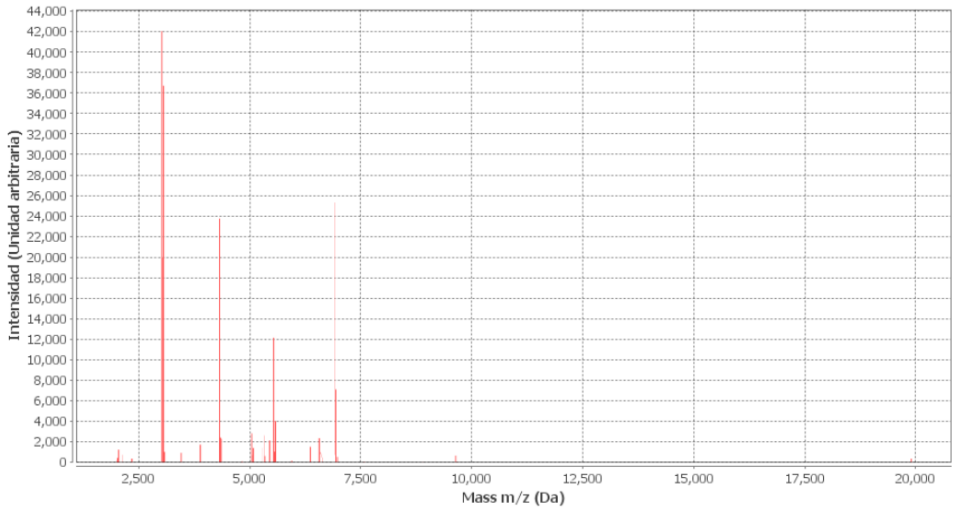


Número de identificaciones: 1

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adquisición/Cálculo
	E1	25/09/25 17:57	Staphylococcus aureus		99.9		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**

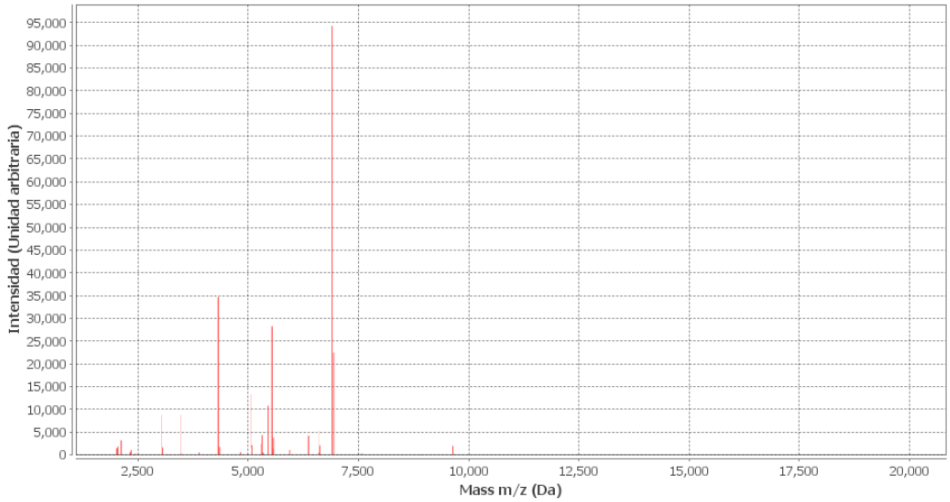


Número de identificaciones: 1

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adqusición/Cálculo
	E2	25/09/25 17:57	Staphylococcus aureus		99.9		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**

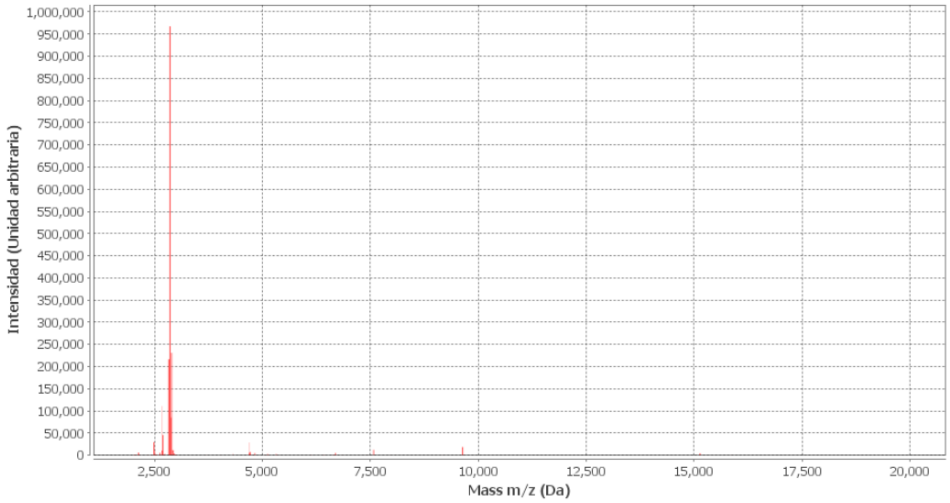


Número de identificaciones: 1

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adqusición/Cálculo
	L1	25/09/25 18:06	Staphylococcus epidermidis		99.9		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**

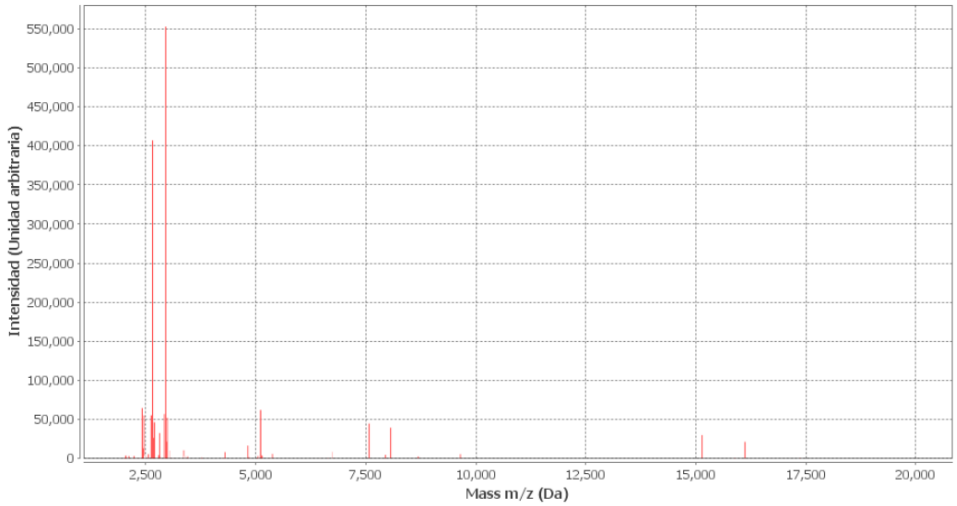


Número de identificaciones: 1

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adquisición/Cálculo
	K4	25/09/25 18:06	Staphylococcus capitis		99.9		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**

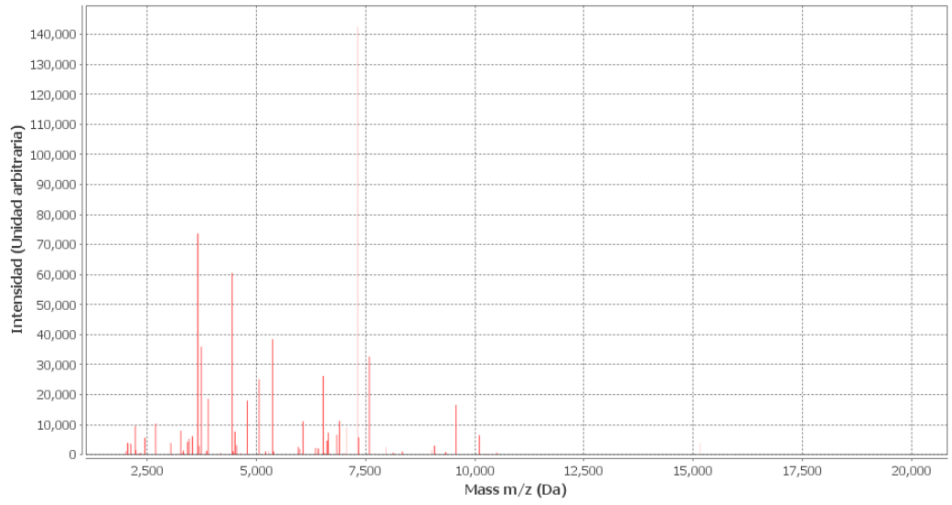


Número de identificaciones: 1

Lista de identificaciones

	Posición	Fecha de análisis	Nombre Microorganismo	patogenicidad	Nivel de confianza	Nivel de confianza	Mensaje(s) Adquisición/Cálculo
	H1	25/09/25 17:57	Enterococcus faecium		99.9		

Clave: **Validar la selección** **Añadir comentario**



Fuente: A.C.C LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO DE CALIDAD DIAGNÓSTICO CON EXCELENCIA

Universidad Católica de Cuenca

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Autorización de publicación en el repositorio institucional

Katherine Gisela Ortiz Vallejo portador(a) de la cédula de ciudadanía Nº **0302506506**. **Camila Estefania Viñanzaca Figueroa** portador(a) de la cédula de ciudadanía Nº **0106750714**. En calidad de autoras y titulares de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación **"Detección de bacterias Gram positivas en superficies de gimnasios de la ciudad de Cuenca - Ecuador"** de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconocemos a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizamos además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de éste trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, **07 de octubre de 2026**

F: .....

Katherine Gisela Ortiz Vallejo

C.I. **0302506506**

F: .....

Camila Estefania Viñanzaca Figueroa

C.I. **0106750714**