

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA**



**UNAP**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Escuela de Formación Profesional  
de Biología

**“PRESENCIA DE *Escherichia coli* Y *Pseudomonas aeruginosa* EN  
FOMITES EMPLEADOS POR MULTIUSUARIOS EN LA CIUDAD DE  
IQUITOS”**

**TESIS**

Requisito para optar el título profesional de

**BIÓLOGO**

AUTORES:

**PRISSILLA DEL ÁGUILA GUEVARA**

**KARLA LAURY SILVA**

**IQUITOS – PERÚ  
2015**

**JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR**

-----  
Blga. Teresa de Jesús Mori del Águila, MSc.

**Presidenta del Jurado**

-----  
Blga. Mildred Magdalena García Dávila, Mgr.

**Miembro del Jurado**

-----  
Blga. Julia Bardales García, MSc.

**Miembro del Jurado**



**JURADOS**

-----  
Mblgo. Álvaro Benjamín Tresierra Ayala, Dr.

**Asesor**

-----  
Blga. María Elena Bendayan Acosta MSc.

**Co Asesor**





FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
Dirección de Escuela Profesional de  
Ciencias Biológicas

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Iquitos, 16 de octubre de 2015

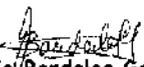
En la ciudad de Iquitos, a los dieciséis (16) días del mes de octubre de 2015 y, siendo las 5:05 p.m. horas; se reunió en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas-UNAP, el Jurado Calificador y Dictaminador de Tesis que suscribe, designado con RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 021-2014-DEFP-B-UNAP, presidido e integrado por la **Blga. TERESA DE JESÚS MORI DEL ÁGUILA, M.Sc.**, (Presidente); **Blga. JULIA BARDALES GARCÍA, M.Sc.**, (Miembro); **Blga. MILDRED MAGDALENA GARCÍA DÁVILA, Mgr.**, (Miembro); para escuchar, examinar y calificar la sustentación y defensa de la tesis titulada: "**PRESENCIA DE *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* EN FOMITES EMPLEADOS POR MULTIUSUARIOS EN LA CIUDAD DE IQUITOS**", realizado por las bachilleres de la Facultad de Ciencias Biológicas-Escuela de Formación Profesional de Ciencias Biológicas: **Karla Laury Silva** de la Promoción II-2012, graduada de Bachiller con R.R. N° 0819-2013-UNAP de fecha 08 de abril de 2013 y **Priscilla Del Águila Guevara** de la Promoción I-2013, graduada de Bachiller con R.R. N° 0578-2014-UNAP de fecha 13 de marzo de 2014; reconociendo como asesor: **Mbigo. ÁLVARO BENJAMIN TRESIERRA AYALA, Dr.**

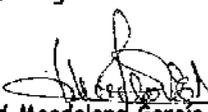
Durante todo el desarrollo de la sustentación y defensa de la tesis, el Jurado Calificador y Dictaminador, considerando lo establecido en el nuevo Reglamento de Grados y Títulos, aprobado y puesto en vigencia mediante RESOLUCIÓN DECANAL N° 206-2012-FCB-UNAP; realizó la evaluación del desempeño de las bachilleres, considerando los criterios y el puntaje consignados en la tabla de valoración.

Culminado el acto, el Jurado Calificador y Dictaminador, con el puntaje alcanzado por las bachilleres y, aplicando los términos establecidos en la tabla de calificación; dio como veredicto: APROBAR LA SUSTENTACIÓN DE LA TESIS, CALIFICADA COMO Muy Buena; quedando en consecuencia las candidatas aptas para ejercer la profesión de Biólogo, previa otorgamiento del Título Profesional por la autoridad universitaria competente y, su correspondiente inscripción al Colegio de Biólogos del Perú.

Finalmente, el Presidente del Jurado Calificador y Dictaminador levantó la sesión siendo las 6:15 p.m. horas y en fe de lo cual, todos los integrantes suscriben la presente Acta de Sustentación por triplicado.

  
Teresa de Jesús Mori Del Águila  
PRESIDENTE

  
Julia Bardales García  
MIEMBRO

  
Mildred Magdalena García Dávila  
MIEMBRO

Dirección: Plaza Serafín Filomeno S/N, Iquitos, Perú  
Teléfono: 236121

[www.unapiquitos.edu.pe](http://www.unapiquitos.edu.pe)  
e-mail: [fcbb@unapiquitos.edu.pe](mailto:fcbb@unapiquitos.edu.pe)

## DEDICATORIA

A Dios por guiarme por el buen camino, a mis padres Rosemberk y Geni por darme la vida, fuerzas para seguir adelante y por creer en mí en todo momento, ya que ustedes siempre estuvieron ahí, dándome fortaleza y ejemplos dignos de superación. Es por eso que les dedico con mucho cariño y amor en reconocimiento a todo el sacrificio que hicieron para darme una buena formación profesional, y haber hecho que hoy pueda ver alcanzada mi meta.

A mi hermana Milagros por su apoyo desinteresado.

A Jorge Luis por ser especial en mi vida, por su tolerancia y apoyo incondicional en todo momento.

Karla Laury Silva

## DEDICATORIA

A Dios por darme la fortaleza necesaria y hacer que no desmaye en este largo camino de lucha y perseverancia.

A mis padres Jacmen y Marina por su apoyo incondicional, por ser el motor y motivo que me ayudaron a cumplir el sueño de ser una gran profesional; ya que sus enseñanzas y consejos hicieron que persiga mis metas a pesar de los tropiezos que se presentaron en el trayecto de la vida universitaria.

A mis hermanos, por su apoyo, por los consejos brindados y sobre todo por estar ahí cuando más necesité de ellos.

A mis dos grandes amores Lukha y Javier por ayudarme a madurar y no dejar que nada ni nadie me detenga y seguir adelante con los mismos ánimos de siempre.

Priscilla Del Águila Guevara

## AGRADECIMIENTO

Queremos expresar nuestro agradecimiento a todas aquellas personas que colaboraron desinteresadamente en la ejecución de este trabajo de tesis.

Al Centro de Investigaciones de Recursos Naturales (CIRNA-UNAP), por permitirnos la realización de esta tesis. Al Dr. Álvaro Benjamín Tresierra Ayala, jefe del Laboratorio de Microbiología, por permitirnos trabajar allí.

A nuestros asesores: al Dr. Álvaro Benjamín Tresierra Ayala y a la Blg. María Elena Bendayan Acosta, por transmitirnos sus valiosos conocimientos, por su paciencia y su apoyo incondicional en todo este tiempo.

Al proyecto: "Sensibilidad a extractos vegetales de patógenos nosocomiales aislados del hardware de computadoras con énfasis en bacterias multidrogoresistentes", por brindarnos los materiales necesarios para el desarrollo de esta tesis.

## INDICE DEL CONTENIDO

JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR.....	ii
JURADOS .....	iii
ACTA DE SUSTENTACIÓN .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
DEDICATORIA .....	v
DEDICATORIA .....	vi
AGRADECIMIENTO .....	vii
INDICE DEL CONTENIDO.....	viii
LISTA DE TABLAS .....	x
LISTA DE FIGURAS .....	xi
LISTA DE ANEXOS .....	xii
RESUMEN .....	xiv
I. INTRODUCCION .....	1
II. REVISION DE LITERATURA .....	4
2.1. Generalidades de las especies bacterianas.....	4
2.1.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Tresierra & Ruiz, 2011) .....	4
2.1.2. <i>Escherichia coli</i> (Tresierra & Ruiz, 2011) .....	9
2.2. Antecedentes .....	15
III. MATERIALES Y METODOS.....	26
3.1. Materiales .....	26
3.1.1. Materiales de laboratorio: .....	26
3.1.2. Equipos de Laboratorio: .....	28
3.2. Métodos .....	28
3.2.1. Área de estudio .....	28
3.2.2. Control de calidad y bioseguridad.....	30
3.2.3. Obtención de las muestras.....	30
3.2.4. Análisis microbiológico.....	31
3.3. Análisis estadístico .....	33
IV. RESULTADOS .....	34
V. DISCUSIÓN.....	41

VI. CONCLUSIONES .....	45
VII. RECOMENDACIONES .....	46
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	47
IX. ANEXOS .....	54



**LISTA DE TABLAS**

Tabla 1. Prevalencia de <i>Escherichia coli</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en fomites empleados por multiusuarios.....	34
Tabla 2. Prevalencia de <i>Escherichia coli</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en teclados de teléfonos públicos según el tipo de institución en la que se encuentran .....	36
Tabla 3. Prevalencia de <i>Escherichia coli</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en cajeros bancarios automáticos según la entidad bancaria .....	38
Tabla 4. Prevalencia de <i>Escherichia coli</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en llaves de lavatorio según el tipo de usuarios.....	39
Tabla 5. Prevalencia de <i>Escherichia coli</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en llaves de lavatorio según el centro educativo .....	40

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1. Prevalencia de Escherichia coli y Pseudomonas aeruginosa en fomites empleados por multiusuarios .....	35
Figura 2. Prevalencia de Escherichia coli y Pseudomonas aeruginosa en teclados de teléfonos públicos según el tipo de institución en la que se encuentran.....	37
Figura 3. Prevalencia de Escherichia coli y Pseudomonas aeruginosa en cajeros bancarios automáticos según la entidad bancaria .....	38
Figura 4. Prevalencia de Escherichia coli y Pseudomonas aeruginosa en llaves de lavatorio según el tipo de usuarios.....	39
Figura 5. Prevalencia de Escherichia coli y Pseudomonas aeruginosa en llaves de lavatorio según el centro educativo .....	40

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Mapa de ubicación del laboratorio donde se realizaron los ensayos microbiológicos (Ciudad de Iquitos).....	54
Anexo 2. Flujograma de obtención de muestras mediante la técnica del hisopado .....	55
Anexo 3. Flujograma de aislamiento de muestras obtenidas de teclados de teléfonos públicos, teclados de cajeros bancarios automáticos y llaves de lavatorios de servicios higiénicos de centros educativos.....	56
Anexo 4. Flujograma de Identificación de cepas de Escherichia coli mediante caracterización microscópica y pruebas bioquímicas .....	57
Anexo 5. Flujograma de Identificación de cepas de Pseudomonas aeruginosa mediante caracterización microscópica y pruebas bioquímicas.....	58
Anexo 6. Flujograma del proceso de obtención de las especies bacterianas en estudio .....	59
Anexo 7. Medios de Cultivo .....	60
Anexo 8. Caracterización Microscópica .....	62
Anexo 9. Pruebas Bioquímicas.....	64
Anexo 10. Presencia de Escherichia coli y Pseudomonas aeruginosa en teclados de teléfonos públicos de la ciudad de Iquitos .....	71
Anexo 11. Presencia de Escherichia coli y Pseudomonas aeruginosa en llaves de lavatorio de servicios higiénicos de Centros Educativos de la ciudad de Iquitos .....	72
Anexo 12. Presencia de Escherichia coli y Pseudomonas aeruginosa en teclados de cajeros bancarios automáticos de la ciudad de Iquitos .....	73

Anexo 13. Tabla de contingencia de los datos de Chi Cuadrado..... 73

Anexo 14. Tabla de contingencia de los datos de Chi Cuadrado..... 73



## RESUMEN

Los fomites desempeñan un rol importante en la transmisión de microorganismos patógenos, especialmente si a estos objetos no se les proporciona buenas normas de higiene o si son empleados inadecuadamente por sus usuarios. El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en fomites empleados por multiusuarios en la ciudad de Iquitos; para lo cual, las muestras fueron obtenidas mediante la técnica del hisopado sobre la superficie de teclados de teléfonos públicos, teclados de cajeros bancarios automáticos y llaves de lavatorio de servicios higiénicos. Para el aislamiento e identificación de las cepas se utilizaron medios de cultivo selectivo así como pruebas tintoriales y bioquímicas convencionales.

Ambas especies bacterianas estuvieron presentes en los fomites analizados; sin embargo, la diferencia entre la prevalencia de ambas bacterias en los objetos estudiados fue significativa.

**Palabras claves:** Fomites, microorganismos patógenos, pruebas tintoriales.

## I. INTRODUCCION

Los seres humanos estamos rodeados por una diversidad de microorganismos, la mayoría de los cuales, son totalmente inofensivos e incluso algunos son beneficiosos y necesarios para nuestra existencia (Neely & Sittig, 2002); sin embargo, determinados ambientes o superficies inanimadas pueden estar contaminadas por una variedad de microorganismos patógenos, los cuales suelen sobrevivir durante periodos prolongados (Arias, 2006).

Los avances tecnológicos están a la orden del día, lo cual permite que la sociedad en su conjunto posea mejores condiciones de vida en los diferentes campos, como es el caso del campo de las comunicaciones, el saneamiento urbano, etc. Los teléfonos públicos y teléfonos celulares son instrumentos que han permitido a las personas una comunicación rápida y efectiva, tan igual como los cajeros bancarios automáticos han posibilitado mayor eficiencia en las transacciones comerciales; sin embargo, el uso inadecuado de dichos equipos podría facilitar la proliferación de microorganismos, tan igual como podrían hacerlo otras superficies inanimadas como es el caso de las llaves de lavatorios de servicios higiénicos públicos. Neely & Sittig (2002), manifestaron que los microorganismos pueden entrar en contacto directo con el usuario o ser transmitidos, por contacto indirecto, involucrando la participación de objetos inanimados, llamados “fomites” o seres vivos, llamados “vectores”.

Un fomite es cualquier objeto carente de vida o sustancia capaz de transportar microorganismos desde un individuo a otro. Se encuentran particularmente relacionados con las “infecciones asociadas a la atención de salud” (IAAS), antiguamente conocidas como “infecciones intrahospitalarias”, sirviendo como posibles medios de transmisión de patógenos entre pacientes. De allí que, actualmente los fomites constituyen una fuente importante de transferencia de bacterias u otros agentes patógenos (Pope *et al*, 2012).

Diversas investigaciones han demostrado que las superficies pulidas (no porosas), son mejores transmisoras de virus y bacterias que las porosas; como es el caso de los teléfonos públicos, cajeros automáticos bancarios y llaves de lavatorios de servicios higiénicos, más aún si se toma en consideración que estos fomites suelen tener contacto o son utilizados por múltiples usuarios (Pope *et al*, 2012).

Detectar la presencia de bacterias potencialmente patógenas como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en fomites empleados por muchos usuarios, constituiría un hecho trascendente, puesto que de este modo se lograrían comprender algunos aspectos epidemiológicos relacionados con los procesos infecciosos ocasionados por estos agentes microbianos.

Por otro lado, detectar la presencia de estas bacterias en los fomites en estudio explicaría el rol que cumplen estos elementos empleados diariamente por la

sociedad como posibles fuentes de contaminación, lo cual conllevaría a que los responsables de cada institución implicada pongan mayor atención a esta problemática y apliquen las medidas correctivas para disminuir el número de personas expuestas a adquirir, por contacto dichos microorganismos, ya sea empleando hábitos de higiene para concientizar a la población escolar, aplicando desinfectantes sobre la superficie de los teléfonos públicos, cajeros bancarios, etc.

Es así que, el objetivo de este trabajo de investigación fue determinar la presencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en fomites empleados por multiusuarios en la ciudad de Iquitos, en el año 2014.

## II. REVISION DE LITERATURA

### 2.1. Generalidades de las especies bacterianas

#### 2.1.1. *Pseudomonas aeruginosa* (Tresierra & Ruiz, 2011)

Está entre los tres bacilos Gram negativos más frecuentemente aislados a partir de la sangre. Tiene una amplia distribución en la naturaleza, preferentemente en ambientes húmedos. Constituye un saprófito cuando coloniza individuos sanos. Es un patógeno en personas inmunodeficientes, representando la causa más común de las neumonías hospitalarias.

#### Clasificación Taxonómica:

Reino	:	Bacteria
Filo	:	Proteobacteria
Clase	:	Gamma Proteobacteria
Orden	:	Pseudomonadales
Familia	:	Pseudomonadaceae
Género	:	<i>Pseudomonas</i>
Especie	:	<i>P. aeruginosa</i> (Schroeter 1872 & Migula 1900)

#### Características Morfológicas:

- Es un bacilo Gram negativo.
- Presenta movilidad por flagelo polar único.

- Presenta capa de polisacárido extracelular semejante a la cápsula.
- Posee pelos que promueve la adherencia a la superficie celular del huésped.
- Cultivo: Para su crecimiento es extremadamente adaptable a más de 80 compuestos orgánicos diferentes; crece en medios para enterobacteriáceas y por tolerar condiciones alcalinas también crece en medios para Vibrio.
- Es aerobio.
- Produce  $\beta$ -hemólisis en agar sangre.
- Temperatura óptima de crecimiento es de 35 a 42°C, esta propiedad la diferencia de las demás especies del género.
- Temperatura óptima a 37°C.
- En los medios de cultivo sólidos, forma colonias húmedas, redondas y lisas con cierto olor a uvas y de un color verde azulado.
- Produce pigmentos de color verde fluorescente (fluoresceína) y azul (piocianina).
- A veces puede formar muchos tipos de colonias en un solo cultivo, como si se tratara de un cultivo mixto: cada tipo puede tener actividad bioquímica y enzimática diferente, así como diversos patrones de sensibilidad química, formando colonias mucoides por excesiva producción del exopolisacárido.

- El agar cefrimide es el medio de cultivo selectivo para esta bacteria, siendo el compuesto inhibidor el bromuro de N-cetil N,N,N-trimetilamonio, que inhibe a los microorganismos que no son idénticos a *Pseudomonas aeruginosa*.

**Estructura Antígena:**

- Antígeno somático que determina hasta 17 serotipos diferentes.
- Tipificación con fases y con piocianina (bacteriocina), que es más compleja.
- Antígeno K en la capa mucosa.

**Patogenia:**

- *Pseudomonas aeruginosa* sólo es patógena cuando se introduce en regiones desprovistas de defensas normales, por ejemplo, mucosas y piel lesionadas por daño tisular directo (quemaduras); empleo de catéteres intravenoso o urinario; o cuando hay neutropenia como en la terapia contra el cáncer. Las bacterias se unen a las mucosas o a la piel y las colonizan; invaden localmente y producen enfermedad sistémica.
- Produce infección en heridas y quemaduras, formando pus de color azul verdoso; cuando se produce por punción lumbar causa meningitis, e infección del aparato urinario cuando la vía de entrada

son catéteres, instrumentos o soluciones irritantes. Las afecciones del aparato respiratorio, en especial por aparatos respiradores contaminados, producen neumonía necrosante.

Esta bacteria se observa con frecuencia en la otitis externa leve de los nadadores. En pacientes con diabéticos puede causar otitis externa invasora (maligna). La infección del ojo, que puede conducir a una destrucción rápida de ese órgano, ocurre con mayor frecuencia después de procedimientos o lesiones quirúrgicas. En lactantes y personas debilitadas puede invadir el torrente sanguíneo y causar septicemia mortal.

#### **Determinantes de Patogenicidad:**

- Pelos o fimbrias, que sirven para la fijación a la célula epitelial del hospedero.
- Cápsula o capa mucosa, que sirve para la adherencia lo que permite la formación de microcolonias en el lugar de la infección. También impide la fagocitosis. Ambos (pelos y cápsula) constituyen factores de colonización, pero no se adhieren a células normales ni en proceso de regeneración, sino únicamente a células lesionadas. La pared del cuerpo que está constituida por LPS, es causante de muchas propiedades endotóxicas. Produce 2 hemolisinas y una de ellas contribuyen a la invasividad del

microorganismo por destrucción del tejido pulmonar. Produce 2 proteasas que son las responsables de las lesiones hemorrágicas cutáneas.

- La Exoenzima A, que produce necrosis tisular mortal: bloquea la síntesis de proteína de la célula produciendo necrosis y el órgano más afectado es el hígado.
- Enterotoxina, que puede producir infección de transmisión alimentaria.

#### **Diagnóstico de Laboratorio:**

**Muestra:** Puede ser pus de las lesiones cutáneas, orina, sangre (en caso de septicemia, osteomielitis, endocarditis, meningitis y neumonía), líquido cefalorraquídeo (en caso de fibrosis quística y neumonía), esputo y otros materiales, según lo indique el tipo de infección. Una muestra es fiable si tiene más de 25 leucocitos y menos de 10 células epiteliales por campo de 100X.

**Observación microscópica:** Haciendo un extendido y coloreando con la técnica de Gram, donde se observa sus características morfológicas y su afinidad al Gram negativo.

**Aislamiento:** Siembra en agar nutritivo y en agar cetrimide para ver características de las colonias y producción de pigmentos.

**Cultivo.** En agar sangre y en los medios diferenciales que se emplean para bacilos entéricos, creciendo como colonia transparente, no fermentadora de la lactosa.

**Identificación:**

- Prueba de la oxidasa.
- Prueba de OX/FER con glucosa (la metaboliza oxidativamente), lo cual nos permite diferenciarlas de las Plesiomonas, Aeromonas y Vibrio que tienen metabolismo fermentativo.

**2.1.2. *Escherichia coli*** (Tresierra & Ruiz, 2011)

Se encuentra ubicado en la tribu Escherichieae que comprende 2 géneros: *Escherichia* y *Shigella* (patógeno). El género *Escherichia* comprende 2 especies: *Escherichia coli* y *Escherichia hermannii*. *Escherichia coli* es más predominante en el intestino grueso del hombre. Es un patógeno oportunista asociado con la enfermedad gastro intestinal humana (particular) en niños y en viajeros. Esta infección se adquiere por la ingesta de aguas contaminadas con heces humanas. Algunas cepas son enterohemorrágicas y causan diarrea sanguinolenta,

generalmente por la ingesta de carnes mal cocidas. Es la causa más común de las infecciones del aparato urinario y de sepsis por bacilos Gram negativos. Una de las causas más importantes de la meningitis neonatal.

**Clasificación Taxonómica:**

Reino	:	Bacteria
Filo	:	Proteobacteria
Clase	:	Gamma Proteobacteria
Orden	:	Enterobacteriales
Familia	:	Enterobacteriaceae
Género	:	<i>Escherichia</i>
Especie	:	<i>E. coli</i> ( <i>E. freundii</i> ), (Migula 1895)

**Características Morfológicas:**

- Bacilo Gram negativo, móvil y no pigmentado.

**Características Biológicas y de Cultivo:**

- Crece en muchos medios comunes. Algunas son  $\beta$  hemolíticas en agar sangre, principalmente en las cepas aisladas de la orina.
- Fermentan la lactosa, con excepción de la cepa *Escherichia coli* enteroinvasiva.
- No pigmentadas, móviles, descarboxilan la lisina.
- Utilizan el acetato como única fuente de carbono.

- Es indol positiva y no utiliza el citrato.

**Estructura Antigénica:**

- Antígenos “O” que permiten distinguir hasta 150 serotipos diferentes.
- Antígenos “K” que permiten clasificar 90 tipos serológicos.
- Antígenos “H” que permiten clasificar hasta 50 tipos serológicos.
- Se puede realizar más de 1000 combinaciones de tipos antígenos.
- Existen serotipos específicos asociados a ciertas enfermedades.

**Determinantes de Patogenicidad:**

**Antígenos superficiales:** Presenta 2 tipos de fimbrias, una sensible a la manosa y otra resistente a la manosa. Ambos son importantes para la colonización de tejidos. Se han demostrado la presencia de estas fimbrias en microorganismos aislados de vías urinarias y se cree que es necesario para la unión de los microorganismos a las células uroepitelial.

**Antígeno capsular:** Parece que interfiere con la fagocitosis de los microorganismos por los leucocitos.

**Enterotoxinas:** de 2 tipos: termoestable (TE) y termolábil (TL). La producción de las mismas se asocia con 2 plásmidos. La TL es semejante

a la toxina del cólera que estimula la adenil ciclasa en las células epiteliales de la mucosa del intestino.

Otros factores de patogenicidad son la hemolisina y su capacidad de penetración.

#### **Diagnóstico de Laboratorio:**

Las muestras asépticas se pueden sembrar en agar sangre y en un medio diferencial como el agar EBM o el agar Mac Conkey. En agar EBM, *Escherichia coli* tiene un aspecto verde tornasolado. Una colonia característica se aísla en agar común y se realizan las pruebas de identificación bioquímica en agar TSI.

#### **Clasificación de *Escherichia coli* de acuerdo a su mecanismo de patogenicidad**

##### **a). Infección del Tracto Intestinal:**

**1). Enterotoxigénica:** Que produce la enfermedad por medio de 2 enterotoxinas: termolábil y termoestable. Produce diarrea voluminosa, sin sangre y de corta duración (1 a 3 días). A menudo está asociada con los viajes (diarreas del viajero), en países en vías de desarrollo.

**2). Enteroinvasiva:** Tiene carácter invasivo por la presencia de fimbrias, es lactosa negativa, no presenta movilidad. Produce diarrea con moco y sangre, semejante al de la Shigella. Se acompaña de células inflamatorias (leucocitos) en las heces.

**3). Enterohemorrágica o verotoxigénica:** Produce diarrea con sangre por acción de una toxina llamada toxina shiga o Verotoxina, que es una citosina especializada, que lisa las líneas de células Vero, que son células que se cultivan en laboratorio.

La infección con este serotipo está asociada con la ingesta de hamburguesas poco cocidas en restaurantes de comida rápida. Algunos pacientes que presentan infección con la cepa O157:H7, sufren una complicación mortal denominada síndrome hemolítico urémico que aparece cuando la verotoxina entra en el torrente circulatorio.

**4). Enteropatógena clásica:** Que produce la diarrea infantil por acción de una citotoxina.

**5). Enteroagregativa:** Estudios recientes han definido algunas características de estas cepas, como es el fenómeno de la autoagregación, que está determinado por un plásmido de 55 a 65

mdaltons, que codifica para una fimbria de adherencia, un lipopolisacárido uniforme y una nueva enterotoxina termoestable (TE) denominada toxina enteroagregativa estable (TEAE).

**6). De adherencia difusa:** Se adhiere a la totalidad de la superficie de las células epiteliales y habitualmente causa enfermedad en niños inmunológicamente no desarrollados o malnutridos. No se ha demostrado que pueda causar diarrea en niños mayores de un año de edad, ni en adultos y ancianos.

**b). Infección Sistémica:**

Los componentes estructurales que desarrollan un papel más importante en la patogenia de la enfermedad sistémica son la capsula y la endotoxina. Por ejemplo, las cepas de *Escherichia coli* que causan meningitis neonatal normalmente poseen un tipo capsular específico denominado antígeno K1.

La endotoxina de *Escherichia coli* es el lipopolisacárido de la pared celular, que causa algunas manifestaciones características de la sepsis por bacterias gram negativas, como fiebre, hipotensión y coagulación intravascular diseminada.

**c). Infecciones del Aparato Urinario:**

Algunos serotipos O de *Escherichia coli* causan preferentemente infecciones del aparato urinario, que se caracterizan por presentar pili con proteínas adhesinas que se unen a receptores específicos en el epitelio del aparato urinario.

**2.2. Antecedentes**

Pese al importante rol que pueden desempeñar los fomites en estudio, existen muy pocos antecedentes en los que se haya considerado un análisis de la importancia de estos en la transmisión de bacterias u otros agentes patógenos. De esta manera se tomó en consideración los estudios realizados en fomites similares a estos, utilizados por multiusuarios como los servicios higiénicos, teléfonos celulares, etc.

**Cozanitis & Grant (1978)**, describieron la contaminación bacteriana de teléfonos celulares en una unidad de cuidados intensivos del Reino Unido, llegando a determinar que los teléfonos eran portadores de un sin número de bacterias; había más suciedad en un teléfono celular que en la manija de una puerta, un teclado de computadora, la suela de un zapato e incluso el asiento de un baño público.

**Rafferty & Pancoast (1984)**, evaluaron en un hospital de Londres, un total de 114 teléfonos, intercomunicadores, dictáfonos y manijas de baldeadores de urinarios, ubicados en áreas de atención al paciente, con la finalidad de ver si existía algún tipo de contaminación bacteriana. Registraron la presencia de nueve tipos de bacterias potencialmente patógenas, prevaleciendo: *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas* sp, etc.

**Singh et al. (1998)**, determinaron que las infecciones nosocomiales causadas por múltiples microorganismos gram-positivos farmacorresistentes, aislados de fomites en hospitales de Kerman, Irán, tales como *Staphylococcus aureus* y especies de enterococos, constituyen un problema creciente en muchas instituciones de atención de la salud.

**Plowman et al. (2001)**, determinaron que las infecciones nosocomiales constituyen un grave problema en todos los hospitales modernos de Inglaterra.

**Tierno (2002)**, médico americano autor del libro La vida secreta de los gérmenes, indicó que los usuarios de baños públicos tienden a no elegir el primer servicio de la fila; así que ese es el más limpio y por ello

aconseja tapar el sanitario antes de bajar la válvula pues, al no hacerlo, partículas de agua infectada de materia fecal se dispersan y flotan en el ambiente por aproximadamente dos horas, y recomienda que si va a un baño público que no tiene tapa, baje la válvula y salga inmediatamente.

**León (2002)**, investigadores de la Universidad de Westminster, en Londres, Inglaterra, detectaron que de un baño público puede aislarse Estreptococos, Estafilococos, *Escherichia coli*, *Shigella*, virus de la hepatitis A y el virus de la gripe estacional que pueden causar infecciones leves en la piel que ocasionalmente, por falta de higiene, se diseminan a la cara y otras partes del cuerpo.

**Yalowittz & Brook (2003)**, realizaron un experimento con el propósito de estudiar las bacterias presentes en los teléfonos públicos de Montgomery Blair High School en Silver Spring , Maryland, a fin de determinar si existía un riesgo de infección para los estudiantes que usaban dichos teléfonos. Ninguna de las bacterias que se encontraron fue reconocida como patógena, por lo que concluyeron que su estudio no mostró un riesgo grave para la salud de los estudiantes que utilizaban los teléfonos públicos el día del experimento.

**Soto et al. (2006)**, determinaron que el uso de teléfonos celulares o fijos por anestesistas que trabajan en la sala de operaciones no sólo implica una alta contaminación con bacterias patógenas no humanas, sino también causaron un 10% de contaminación de bacterias patógenas humanas, ya que pueden tener un efecto beneficioso en la comunicación y por lo tanto, mejorar la calidad de atención a los pacientes en la unidad de cuidados intensivos (UCI) de la Universidad de Stony Brook en New York, Estados Unidos.

**Karabay et al. (2007)**, estudiaron el papel de los teléfonos celulares en la diseminación de bacterias que causan infecciones hospitalarias en Turquía, logrando aislar bacterias como: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Klebsiella pneumoniae*.

**Goldblatt et al. (2007)**, determinaron que las manos y los instrumentos utilizados por los trabajadores de salud en New York e Israel pueden servir como vectores o fomites para la transmisión nosocomial de microorganismos; la constante manipulación de teléfonos celulares que comúnmente utiliza el personal médico del hospital constituye un riesgo puesto que ellos albergan microorganismos patógenos, pudiendo servir como vectores para la transmisión a los pacientes; sin embargo, los

teléfonos celulares, se han convertido en una parte indispensable de nuestras vidas ya que son esenciales por su acceso rápido y fácil uso.

**Koçoglu et al. (2007)**, investigaron la contaminación bacteriana de los teléfonos celulares de los trabajadores de un hospital, con una capacidad de 200 camas y una unidad de cuidados intensivos, que se encuentra en el Negro Western Región del Mar de Turquía. Donde se observó crecimiento en 111 de 122 muestras evaluadas. Sin embargo, las bacterias que podrían estar asociadas con infecciones hospitalarias se aislaron en sólo diez muestras (9,0%), de las cuales cuatro fueron *Escherichia coli*, dos *Enterococcus faecalis*, dos *Pseudomonas aeruginosa*, una *Pseudomonas fluorescens* y una *Klebsiella pneumoniae*.

**Kravitz (2007)**, realizó un estudio a nivel de servicios higiénicos en la ciudad de Chicago, Estados Unidos y concluyó que muchos gérmenes que amenazan la salud están presentes en los baños públicos en diferentes grados educativos, incluyendo Estreptococo, Estafilococo, *Escherichia coli*, virus de la Hepatitis A y el virus del resfriado común.

**Gomes et al. (2008)**, evaluaron cualitativamente y cuantitativamente la contaminación de los teléfonos públicos ubicados en seis lugares de la ciudad de Franca (Sao Paulo, Brasil), logrando aislar cepas bacterianas

(*S. epidermidis*, *Bacillus* sp., *K. pneumoniae* y *S. aureus*), en todos los teléfonos. El 91.2% de estos poseían un nivel de contaminación superior a 2.0 UFC/cm<sup>2</sup>. Los lugares con los mayores niveles de contaminación fueron los hospitales, las estaciones de autobuses y tiendas, concluyendo que los teléfonos públicos evaluados en este estudio, estaban contaminados con microorganismos potencialmente patógenos, por lo que sus usuarios estaban expuestos a ser infectados, recomendando la desinfección periódica de dichos teléfonos.

**Ulger et al. (2009)**, evaluaron el papel de los teléfonos celulares en relación con la transmisión de bacterias desde el teléfono celular a manos de los trabajadores sanitarios de la Universidad de Ondokuz Mayıs Facultad de Medicina en Turquía. Donde el 94,5 % de los teléfonos demostró evidencia de contaminación bacteriana con diferentes tipos de bacterias. Las cepas gram negativas se aislaron del 31.3 % de los teléfonos celulares. Cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de los teléfonos celulares de 52 % y las cepas aisladas de manos de un 37,7% fueron resistentes a la meticilina. Algunos teléfonos estaban contaminados con patógenos nosocomiales importantes.

**Akinyemi et al. (2009)**, determinaron el papel potencial de los teléfonos celulares en la difusión de enfermedades en el departamento de

Microbiología de la Universidad del Estado de Lagos, Nigeria, donde revelaron un alto porcentaje (62,0%) de contaminación bacteriana. *Staphylococcus coagulasa* negativos fue el agente bacteriano más frecuente. Otros agentes bacterianos identificados fueron *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*

**Sait et al. (2011)**, del Departamento de Microbiología Médica de la Universidad de Inonu en Malatya, Turquía, recogieron muestras del frotis de tres partes de teléfonos: teclado, micrófono y auricular. Donde encontraron que el 39,6% de los teléfonos de los pacientes y el 20,6 % de los teléfonos de los trabajadores de salud dieron positivo para algunos patógenos como: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Echerichia coli*, etc. Además, 7 teléfonos de los pacientes contenían patógenos resistentes a múltiples fármacos, tales como *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina y que pueden multiplicar organismos gramnegativos resistentes, mientras que no hay teléfonos de trabajadores de salud que dieron positivo para patógenos resistentes a múltiples fármacos.

**Bures et al. (2011)**, investigaron la contaminación bacteriana de los teléfonos celulares y sus patrones de susceptibilidad antibiótica en la Universidad de Cape Coast, Ghana, determinando la existencia de un

100% de contaminación en la superficie de todos los teléfonos celulares con un recuento bacteriano medio de  $9.915 \times 10^7$  UFC/ml con un total de 11 especies de bacterias aisladas. Los aislamientos superiores incluyeron *Bacillus cereus* (23%) y *Proteus mirabilis* (19%), mientras que los menos aislados fueron *Salmonella spp.* (3%) y *Shigella spp.* (2%). Las cepas patógenas componen el 81,8% de todas las cepas aisladas; el 18,2% de *Salmonella spp.* y *Shigella spp.* mostraron la mayor resistencia a los antibióticos (87,5%), mientras que *Escherichia coli* fue la bacteria más susceptible a los antibióticos (75%).

**Velásquez et al. (2011)**, investigadores de la Universidad de Colorado en Estados Unidos, demostraron que las superficies de los servicios sanitarios albergan comunidades microbianas relativamente diversas dominadas por bacterias con un vínculo claro entre las comunidades en diferentes partes del cuerpo y aquellas encontradas en las diferentes superficies.

**Barzanallana (2011)**, microbiólogo de la compañía BioCote especializada en protección con antimicrobianos en Inglaterra, demostró que la cantidad y diversidad de bacterias que se encuentran en los cajeros automáticos son suficientes para competir con las de los aseos públicos y que las bacterias coliformes entéricas o pertenecientes a la familia de

Bacillus o Pseudomonas eran similares a la flora bacteriana de los baños públicos más cercanos.

**Hastings (2011)**, mostró interés en la comparación de los niveles de contaminación bacteriana entre los teclados de cajeros automáticos y aseos públicos en diversas localidades de Inglaterra, demostrando que estos están altamente contaminados mayormente por bacterias fecales, al mismo nivel que un sanitario público.

**Ibrahim et al. (2012)**, realizaron un estudio para determinar el potencial de los teléfonos celulares para albergar microorganismos en entornos hospitalarios y para evaluar su papel en la transmisión desde el teléfono celular a las manos de los trabajadores de la salud en la facultad de Medicina de la Universidad de Egipto. Demostrando que los teléfonos celulares actúan como hábitat perfecto para que los microbios se reproduzcan, especialmente en alta temperatura y en condiciones húmedas; y que los teléfonos celulares de los trabajadores sanitarios pueden servir como reservorios de microorganismos que podrían transmitirse fácilmente a las manos de los trabajadores sanitarios y, por tanto, facilitan la transmisión de un paciente aislado a otro en diferentes ambientes hospitalarios.

**Muñoz et al. (2012)**, determinaron la presencia y el porcentaje de bacterias aerobias oportunistas presentes en los teléfonos celulares del personal y alumnos de la clínica multidisciplinaria (CLIMUZAC) de la Unidad Académica de Odontología de la Universidad Autónoma de Zacateca, logrando identificar a: *Staphylococcus* sp. (16.7%), *Staphylococcus aureus* (38.7%), *Klebsiella* sp. (11.6%), *Klebsiella pneumoniae* (0.6%), *Shigella* sp. (10.3%), *Streptococcus* sp. (8.3%), *Streptococcus pneumoniae* (1.2%), *Micrococcus* sp. (0.6%), *Pseudomonas* sp. (1.9%), *Pseudomonas aeruginosa* (0.6%), *Enterococcus* sp. (0.6%), *Enterococcus faecalis* (3.2%), *Salmonella* sp. (1.9%), *Bacteroides vulgaris* (0.6%) y *Escherichia coli* (1.9%).

**Flores & Fierer (2013)**, investigadores de la Universidad de Colorado en Estados Unidos, estudiaron 12 baños públicos, seis masculinos y otros tantos de mujeres. Usando una técnica de alto rendimiento de secuenciación genética, donde identificaron diversas bacterias en todas las superficies que probaron. El piso tenía la comunidad bacteriana más diversa; la piel humana era la principal fuente de bacterias en todas las superficies. También encontraron algunas diferencias entre las bacterias que se encuentran en los baños de hombres y las que hay en las de las mujeres. En concreto, identificaron 19 tipos de bacterias en todas las

superficies. La mayoría de las *secuencias pertenecían a Actinobacteria*, Bacteroides, Firmicutes y Proteobacterias.

**Sánchez (2013)**, realizó un estudio para analizar la presencia de especies bacterianas en 40 teléfonos de diferentes zonas de Madrid, donde comprobó que el 95 % de estos dispositivos estaban contaminados con algún tipo de microorganismo y hasta un 30 % presentaba restos de materia fecal. Revelando que las bacterias con más presencia fueron los Aeróbios Mesófilos que estaban presentes en un 76%, seguidas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Escherichia coli*.

### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. Materiales

##### 3.1.1. Materiales de laboratorio:

###### **Materiales de vidrio**

- Probetas graduadas (10, 50, 100, 500 ml)
- Matraces de Erlenmeyer ( 250 ml)
- Pipetas graduadas de vidrio (5,10 ml)
- Placas de Petri (100x20)
- Mecheros de alcohol
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitado (10, 50, 600 ml)
- Frascos de vidrio

###### **Medios de Cultivo**

- Agar Cetrimide
- Agar Mac conkey
- Agar Trypticasa de Soya
- Agar Ox – fer
- Agar Citrato
- Caldo Peptonado
- Caldo glucosado

**Reactivos y Colorantes**

- Cristal violeta
- Alcohol acetona
- Lugol
- Safranina
- Rojo de Metilo
- Kovac`s
- Oxidasa

**Otros**

- Agua destilada
- Alcohol industrial
- Alcohol al 96%
- Asas bacteriológicas
- Papel aluminio
- Papel Toalla
- Encendedor
- Hisopos estériles
- Papel de despacho
- Hilo nylon
- Guantes quirúrgicos
- Parafina líquida
- Plumón indeleble

- Mascarilla descartable
- Espátula
- Gradilla de metal
- Mandil de laboratorio

### **3.1.2. Equipos de Laboratorio:**

- Balanza mecánica (Ohaus Mod. Triple Beam)
- Balanza analítica (Ohaus/Pioneer Mod. ED224S)
- Cocina eléctrica pequeña
- Autocalve (Yamato Mod. Sterilizer SM510)
- Estufa (Mettler Mod. 30-750)
- Refrigeradora (Coldex Mod. CN36)
- Refrigeradora (Mabe Mod. MA021XJPNS1)
- Destilador de agua (Brand–MonoDest 3000)
- Cámara de Flujo laminar (Labconco Mod. 30248110)
- Cámara Digital Sony (Mod. P)

## **3.2. Métodos**

### **3.2.1. Área de estudio**

El estudio se realizó en la ciudad de Iquitos, que se encuentra ubicada en el noreste de Perú, al noreste de departamento de Loreto, y en el extremo sur de la Provincia de Maynas.

Asentada en una llanura llamada la Gran Planicie, la ciudad tiene una extensión de 368,9 km<sup>2</sup> (142,4 mi<sup>2</sup>) y abarca parte de los distritos de Belén, Punchana y San Juan Bautista. Se encuentra aproximadamente en las coordenadas 03°43'46"S y 73°14'18"O a 106 msnm. Según información brindada por el SENAMHI, Iquitos presenta una precipitación media anual de 2100.5 mm, una temperatura media anual de 27.2 °C y una humedad relativa media anual de 72.9%.

Las cepas se aislaron de teclados de teléfonos públicos, teclados de cajeros bancarios automáticos y llaves de lavatorios de servicios higiénicos de centros de educación primaria de la ciudad de Iquitos, tales como Mariscal Oscar R. Benavides, Sofía Lecca Vargas, Sagrado Corazón y República de Venezuela. Los ensayos microbiológicos se realizaron en el Laboratorio de Microbiología del Centro de Investigaciones de Recursos Naturales (CIRNA – UNAP), ubicado en el pasaje Los Paujiles s/n, AA. HH. Nuevo San Lorenzo, distrito de San Juan Bautista, provincia de Maynas (Anexo 1).

### **3.2.2. Control de calidad y bioseguridad**

En los diferentes ensayos que se realizaron en el presente estudio, se aplicaron las medidas necesarias para garantizar una buena calidad en la recolección de las muestras, con la asepsia necesaria, empleando guantes quirúrgicos y colocándolas en tubos con medios de cultivo estéril (Anexo 2).

Se trabajó teniendo siempre en cuenta las medidas de bioseguridad a seguir en un laboratorio de Microbiología.

### **3.2.3. Obtención de las muestras**

Se analizó 30 teclados de teléfonos públicos, 12 teclados de cajeros bancarios automáticos y 30 llaves de lavatorios de servicios higiénicos de centros educativos de la ciudad de Iquitos.

Para la obtención de las muestras se utilizó la técnica del hisopado, por ser la más apropiada para superficies inertes, como es el caso de los teléfonos públicos, cajeros bancarios automáticos y llaves de lavatorios de servicios higiénicos de centros de educación primaria, tales como Mariscal Oscar R. Benavides, Sofía Lecca Vargas, Sagrado Corazón y Republica de

Venezuela. En esta técnica se empleó dos hisopos estériles para cada fomite. Cada hisopo fue previamente humedecido en 5 ml de Caldo Soya Tripticasa (TSB), luego se procedió a frotar la superficie de los fómites en sentido horizontal, vertical y diagonal, respectivamente. Los hisopos utilizados fueron depositados en un tubo con TSB, rompiendo el vástago por debajo de la parte que estuvo en contacto con los dedos (Anexo 2).

Cada una de las muestras, fueron colocadas en una caja térmica fría para su posterior transporte y procesamiento inmediato en el Laboratorio de Microbiología del Centro de Investigaciones de Recursos Naturales Antiparasitarios de la Amazonía (CIRNA – UNAP).

#### **3.2.4. Análisis microbiológico**

Se efectuó el aislamiento e identificación de las cepas bacterianas a partir de los fómites muestreados, mediante técnicas y procedimientos estandarizados (Anexo 6).

#### **3.2.4.1. Aislamiento e identificación de *Pseudomonas aeruginosa***

Se depositó un hisopo proveniente de cada fomite en tubos con 5 ml de Caldo Peptona, a cuya composición se le adicionó 0.002 g/L de cristal violeta, con la finalidad de inhibir el crecimiento de bacterias Gram (+). Los tubos fueron incubados a 37 °C por 24 horas, para su respectivo enriquecimiento selectivo.

Los tubos que mostraron crecimiento (turbidez), fueron resembrados en placas estériles con Agar Cetrimide, siendo incubadas posteriormente a 37 °C durante 24 a 48 horas (Anexo 3).

Las placas que presentaron crecimiento y su pigmentación cambió de verde azulado a verde amarillento alrededor de este, fueron repicadas a tubos con medio TSA para su caracterización microscópica mediante la coloración Gram y pruebas bioquímicas de oxidasa, OX-FER con glucosa (Anexo 5, 8 y 9).

#### 3.2.4.2. Aislamiento e identificación de *Escherichia coli*

Los tubos que presentaron crecimiento en TSB fueron resembrados en placas estériles con Agar Mac Conkey, las cuales fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas (Anexo 3).

Las colonias de color rojo púrpura rodeadas de una zona de similar color, fueron resembradas en TSA para su respectiva caracterización microscópica y pruebas bioquímicas de la oxidasa, rojo de metilo, producción de indol y utilización del citrato (Anexo 4, 8 y 9).

### 3.3. Análisis estadístico

Los resultados fueron interpretados mediante la estadística descriptiva, y la prueba de Homogeneidad de Chi cuadrado ( $X^2$ ) para ver la diferencia significativa existente en la presencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en los fomites evaluados.

#### IV. RESULTADOS

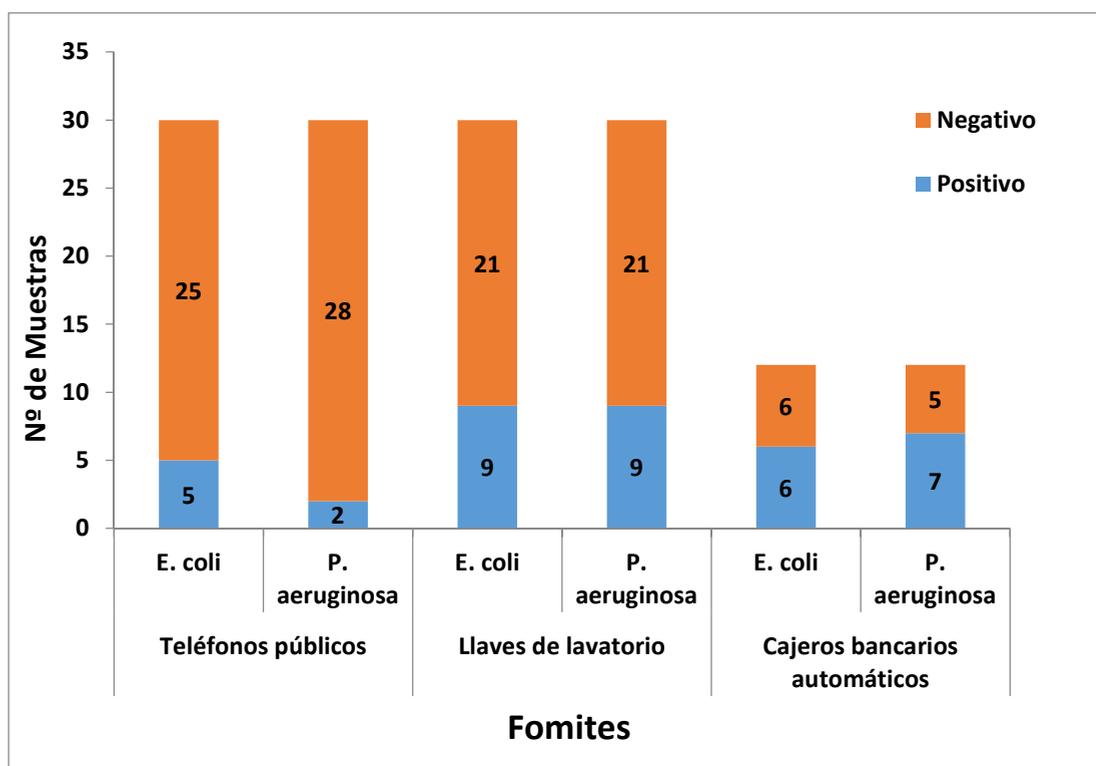
Para determinar la presencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en fomites empleados por multiusuarios a nivel de teclados de teléfonos públicos, teclados de cajeros bancarios automáticos y llaves de lavatorios de servicios higiénicos de centros educativos en la ciudad de Iquitos, tales como Mariscal Oscar R. Benavides, Sofía Lecca Vargas, Sagrado Corazón y Republica de Venezuela; se recolectaron un total de 72 muestras (Tabla 1, Figura 1 y Anexo 10, 11 y 12), obteniendo los siguientes resultados:

**Tabla 1. Prevalencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en fomites empleados por multiusuarios**

Fomites	N	Prevalencia de	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Teléfonos públicos	30	5 (16.7%)	2 (6.7%)
Cajeros bancarios automáticos	12	6 (50%)	7 (58.3%)
Llaves de lavatorio	30	9 (30%)	9 (30%)
<b>Total</b>	<b>72</b>	<b>20 (27.8%)</b>	<b>18 (25%)</b>

De los 72 fomites analizados, 20 (27.8%) estuvieron contaminados con *Escherichia coli*, mientras que 18 (25%) lo estuvieron con *Pseudomonas aeruginosa*. En el 16.7% y el 6.7% de los teléfonos públicos analizados se aisló *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, respectivamente. De los 12 cajeros bancarios automáticos analizados, en el 50% y el 58.3% hubo contaminación con *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*,

respectivamente. Finalmente, el 30% de las llaves de lavatorio de servicios higiénicos presentaron contaminación con estas especies bacterianas (Tabla 1, Figura 1).



**Figura 1. Prevalencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en fomites empleados por multiusuarios**

En los tres fomites evaluados, no existe diferencia sobre la presencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* ( $\chi^2_{(1,26)} = 0.5324$ ; gl = 2;  $p \leq 0.05$ ), lo cual significaría, que ambas bacterias pueden aislarse indistintamente tanto de los teclados de teléfonos públicos, teclados de cajeros bancarios automáticos y llaves de lavatorios de servicios higiénicos de centros educativos en la ciudad de Iquitos (Anexo 13). Por

otro lado, existe una diferencia significativa ( $\chi^2_{(16,28)} = 0.003$ ;  $gl = 2$ ;  $p \leq 0.05$ ) en la presencia de ambas bacterias sobre la selectividad de los fomites, con mayor prevalencia en teclados de cajeros bancarios automáticos y llaves de lavatorio de servicios higiénicos (Anexo 14).

**Tabla 2. Prevalencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en teclados de teléfonos públicos según el tipo de institución en la que se encuentran**

Tipo de institución	n	Prevalencia de	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>Centros relacionados a la salud</b>	<b>12</b>	<b>2 (16.7%)</b>	<b>0 (0%)</b>
○ Hospital	5	0 (0%)	0 (0%)
○ Farmacia	5	1 (20%)	0 (0%)
○ Laboratorio clínico	2	1 (50%)	0 (0%)
<b>Negocios públicos</b>	<b>18</b>	<b>3 (16.7%)</b>	<b>2 (11.1%)</b>
○ Cabina de internet	1	1 (100%)	1 (100%)
○ Bodega	10	2 (1.9%)	0 (0%)
○ Fotocopiadora	1	0 (0%)	1 (100%)
○ Restaurante	4	0 (0%)	0 (0%)
○ Ferretería	1	0 (0%)	0 (0%)
○ Cabina telefónica pública	1	0 (0%)	0 (0%)

De los 30 teléfonos públicos muestreados, en el 16.7% de los ubicados en lugares circundantes a centros relacionados con la salud así como en los ubicados en negocios públicos, se determinó la presencia de *Escherichia coli*, mientras que *Pseudomonas aeruginosa* se aisló solo en el 11.1% de teléfonos ubicados en negocios públicos (cabina de internet, fotocopiadora) mas no en aquellos teléfonos ubicados en los alrededores de centros relacionados a la salud (Tabla 2, Figura 2).

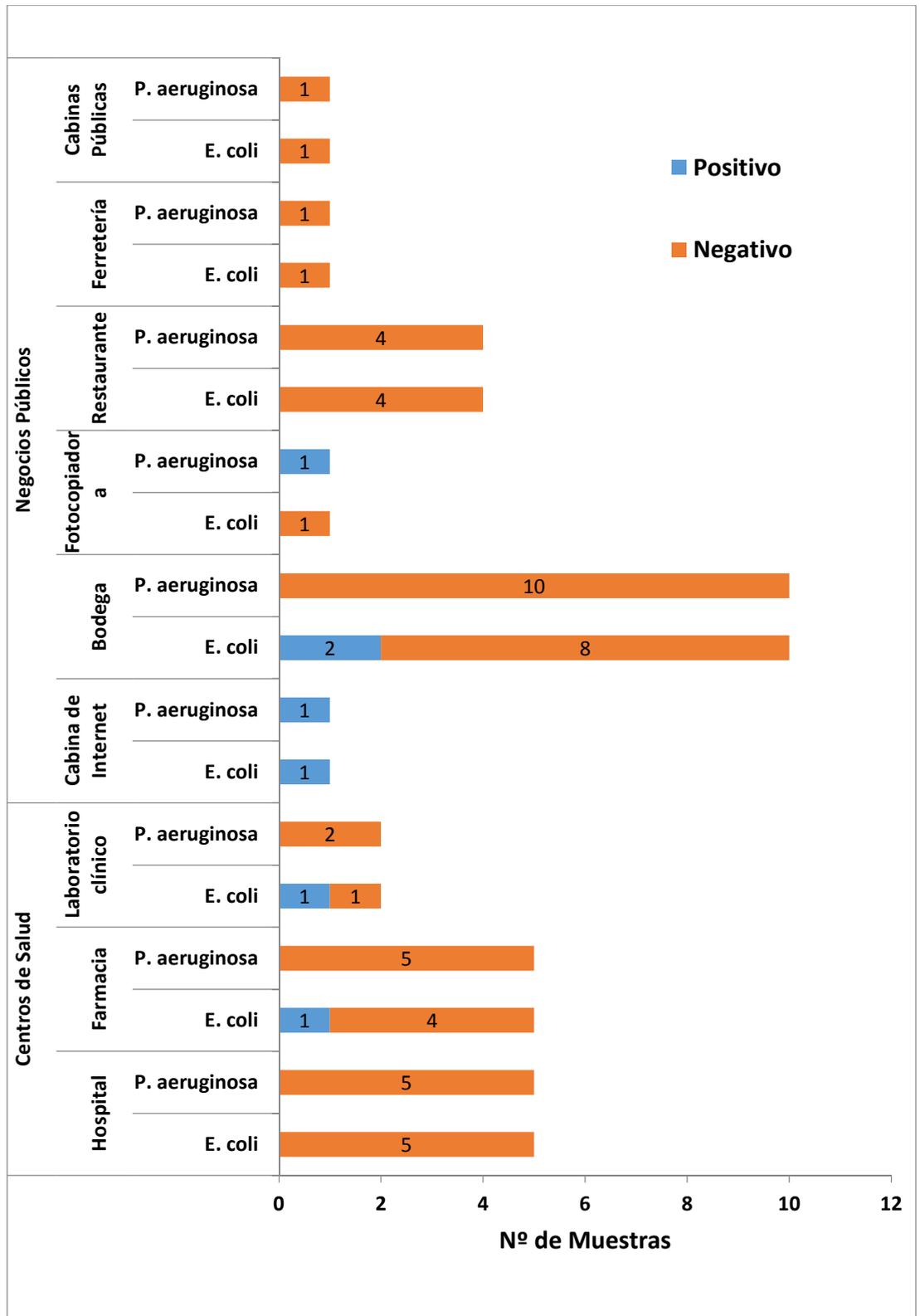
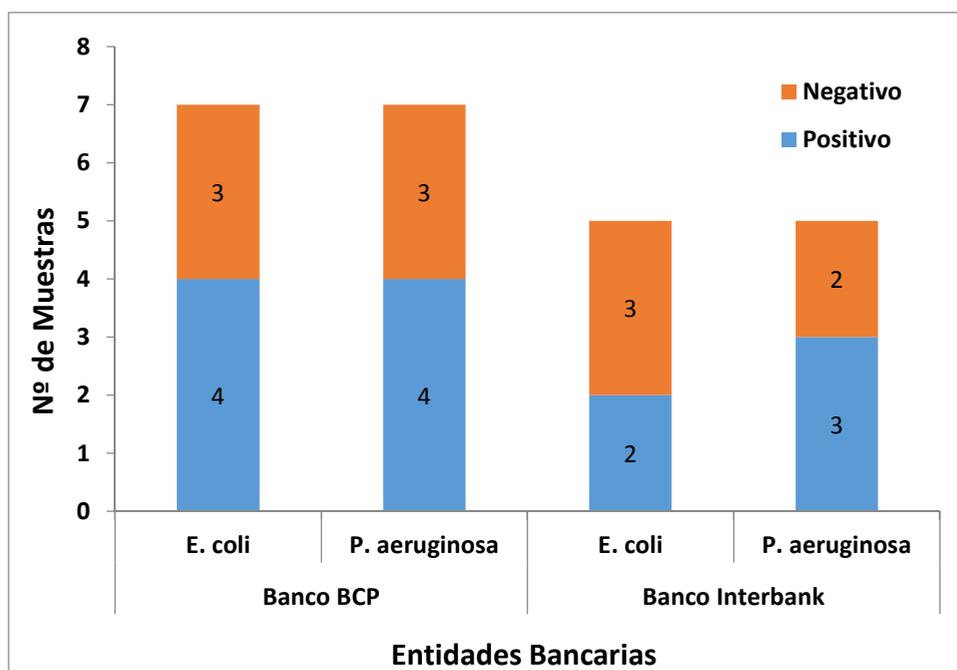


Figura 2. Prevalencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en teclados de teléfonos públicos según el tipo de institución en la que se encuentran

**Tabla 3. Prevalencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en cajeros bancarios automáticos según la entidad bancaria**

Entidades bancarias	N	Prevalencia de	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Banco BCP	7	4 (57.1%)	4 (57.1%)
Banco Interbank	5	2 (40 %)	3 (60 %)

De los 12 teclados de cajeros bancarios automáticos muestreados se encontró *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en mayor cantidad en el banco BCP en un 57.1% en ambas especies bacterianas; y en menor cantidad en el banco Interbank en un 40% y 60% respectivamente (Tabla 3, Figura 3).

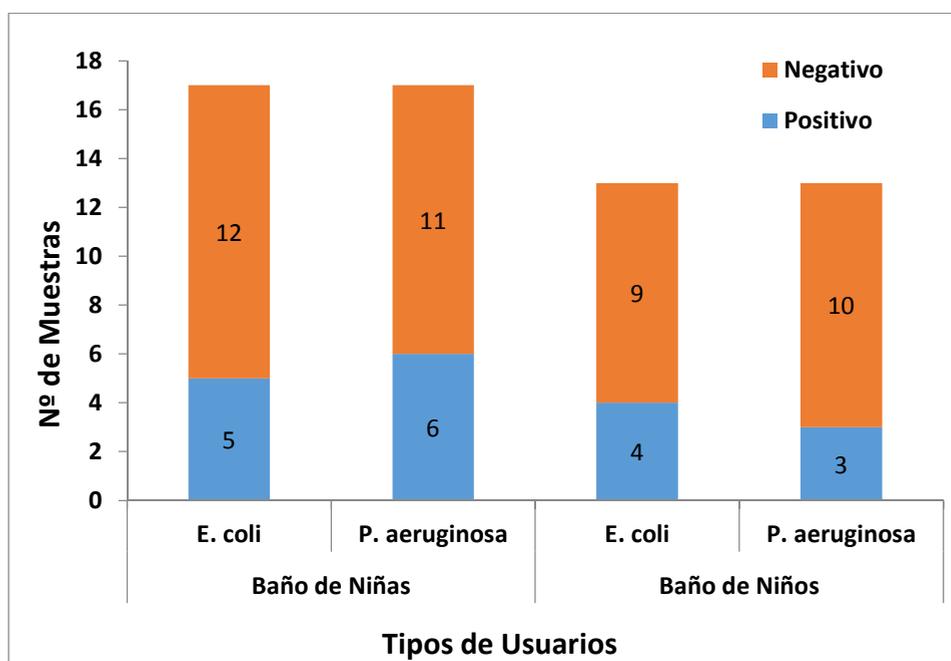


**Figura 3. Prevalencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en cajeros bancarios automáticos según la entidad bancaria**

**Tabla 4. Prevalencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en llaves de lavatorio según el tipo de usuarios**

Tipo de usuarios	N	Prevalencia de	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Baño de niñas	17	5 (29.4%)	6 (35.3%)
Baño de niños	13	4 (30.8%)	3(23.1%)

De las 30 llaves de lavatorio de servicios higiénicos de los centros educativos muestreados se encontró *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en mayor cantidad en los baños de niñas en un 29.4% y 35.3%; y en menor cantidad en los baños de niños en un 30.8% y 23.1% respectivamente (Tabla 4, Figura 4).

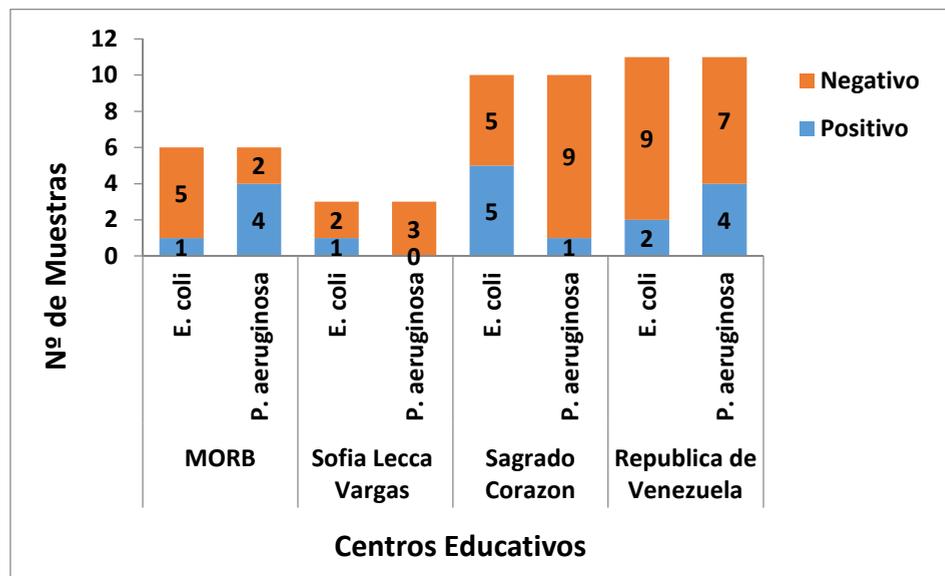


**Figura 4. Prevalencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en llaves de lavatorio según el tipo de usuarios**

**Tabla 5. Prevalencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en llaves de lavatorio según el centro educativo**

Centros educativos	N	Prevalencia de	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Mariscal Oscar R. Benavides	6	1 (16.7%)	4 (66.7%)
Sofía Lecca Vargas	3	1 (33.3%)	0 (0%)
Sagrado Corazón	10	5 (50%)	1 (10%)
República de Venezuela	11	2 (18.2%)	4 (36.4%)

De los cuatro centros educativos muestreados se encontró *Escherichia coli* en mayor cantidad en los colegios Sagrado Corazón y República de Venezuela en un 50% y 18.2% en cada uno; mientras que *Pseudomonas aeruginosa* se aisló en mayor cantidad en los colegios Mariscal Oscar R. Benavides y República de Venezuela en un 66.7% y 36.4% respectivamente (Tabla 5, Figura 5).



**Figura 5. Prevalencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en llaves de lavatorio según el centro educativo**

## V. DISCUSIÓN

Se han revisado diversos trabajos de investigación (Cozanitis & Grant 1978, Soto *et al.* 2006, Karabay *et al.* 2007, Goldblatt *et al.* 2007, Koçoglu *et al.* 2007, Kravitz 2007, Ulger *et al.* 2009, Akinyemi *et al.* 2009, Bures *et al.* 2011, Sait *et al.* 2011, Ibrahim *et al.* 2012, Muñoz *et al.* 2012) en los que se destaca la importancia de los teléfonos celulares o móviles como fomites transmisores de diferentes agentes microbianos; sin embargo, poco es lo que se ha estudiado acerca de la importancia que pueden desempeñar los teléfonos públicos como fomites de contaminación para el ser humano, a pesar que estos aparatos pueden cumplir un rol más importante que los teléfonos celulares puesto que pueden ser utilizados por multiusuarios.

En la tabla número 1 se muestra que los teclados de cajeros bancarios automáticos y llaves de lavatorio de servicios higiénicos desempeñan un rol importante en la transmisión de los microorganismos en estudio, lo cual se demuestra después de haber realizado el análisis estadístico correspondiente; sin embargo, esta situación no se observó a nivel de los teléfonos públicos analizados. Al respecto Gomes *et al.* (2008) registraron que los teléfonos públicos desempeñan una importante función como fomites; pero no consideraron en su estudio el rol que podían desempeñar los teclados de cajeros bancarios automáticos y las llaves de lavatorio de servicios higiénicos.

En lo que concierne a los teléfonos públicos analizados en el presente estudio, *Escherichia coli* estuvo presente en la mayoría de los equipos analizados, tanto a nivel de centros relacionados a la salud así como aquellos cercanos a negocios públicos, situación que no se presentó cuando se analizó la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* ya que ésta estuvo ausente en los teléfonos de los centros relacionados a la salud (tabla 2). Al respecto Gomes *et al.* (2008), evaluaron cualitativamente y cuantitativamente la contaminación de los teléfonos públicos ubicados en seis lugares de la ciudad de Franca (Sao Paulo, Brasil), logrando aislar cepas bacterianas (*S. epidermidis*, *Bacillus sp.*, *K. pneumoniae* y *S. aureus*), en todos los teléfonos, sin llegar a registrar la presencia de estos bacilos gram negativos en los equipos analizados. Por otro lado Rafferty & Pancoast (1984), realizaron un trabajo similar en un hospital de Inglaterra, registrando la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* mas no de *Escherichia coli*.

Yalowittz & Brook (2003), con el propósito de indagar si existe un riesgo de infección para los usuarios de teléfonos públicos del Montgomery Blair High School en Silver Spring, Maryland, Estados Unidos, realizaron un estudio para determinar las bacterias presentes en dichos equipos de comunicación. Pese a no mencionar que especies bacterianas estaban presentes; al igual que en nuestro estudio manifestaron que el estado de estos teléfonos no constituía un

riesgo grave para la salud de los estudiantes de dichas instituciones educativas que utilizaban los teléfonos públicos.

Se considera importante destacar en el presente trabajo de investigación la ausencia de *Pseudomonas aeruginosa* en los teléfonos circundantes de los centros relacionados a la salud, lo cual suele ser un hecho inusual puesto que diversos estudios han posibilitado el aislamiento de cepas de esta especie bacteriana en fomites de centros hospitalarios, muchos de los cuales podrían caracterizarse por ser multidrogorresistentes (Da Cunha y García 2012).

Los cajeros bancarios automáticos son utilizados diariamente para realizar transacciones comerciales; sin embargo, la falta de higiene de dichos equipos podría facilitar la proliferación de microorganismos al igual que los baños públicos tal como lo muestra Barzanallana (2011), quien demostró que la cantidad y diversidad de bacterias que se encuentran en los cajeros automáticos son suficientes para competir con las de los aseos públicos y que las bacterias coliformes entéricas o pertenecientes a la familia de Bacillus o Pseudomonas eran similares a la flora bacteriana de los baños públicos más cercanos. Un estudio similar realizado por Hastings (2011), demostró que los teclados de los cajeros bancarios automáticos están altamente contaminados de bacterias, al mismo nivel que un sanitario público. Lo cual concuerda con los resultados de nuestro trabajo de investigación ya que en los teclados de cajeros

bancarios automáticos la especie bacteriana más encontrada fue *Pseudomonas aeruginosa* (tabla 3).

El hábito de lavarse las manos después de haber realizado deposiciones no significa necesariamente que se van a eliminar los microorganismos que pueden haber contaminado las manos, ya que al lavar la mano contaminada implica primeramente abrir la llave del agua con la consecuente contaminación con agentes enteropatógenos que pueden haberse adquirido previamente; luego del lavado el usuario debe cerrar la llave con la consecuente contaminación de las manos previamente aseadas (descontaminadas). Este suele ser un hecho muy común especialmente en los centros educativos de nivel primario, de allí que resulta de gran importancia conocer la existencia de los microorganismos que pueden estar contaminando estos fomites. Sin embargo, no se han realizado estudios relacionados con este problema de salud pública. En el presente estudio se registró que la prevalencia de estas especies bacterianas era similar en los baños estudiados, al parecer estas bacterias fueron aisladas con mayor frecuencia de las llaves de lavatorio de los servicios higiénicos de niñas (tabla 4).

## VI. CONCLUSIONES

- *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* están presentes en teclados de teléfonos públicos, teclados de cajeros bancarios automáticos y llaves de lavatorio de servicios higiénicos de centros educativos en la ciudad de Iquitos.
- La diferencia entre la prevalencia de ambas bacterias en los objetos estudiados fue significativa.
- Los fomites que presentaron mayor prevalencia de ambas bacterias fueron los teclados de cajeros bancarios automáticos.

## VII. RECOMENDACIONES

- A los responsables de cada institución se le recomienda implementar políticas de higiene y rutinas de desinfección en teclados de teléfonos públicos, teclados de cajeros bancarios automáticos y llaves de lavatorio de servicios higiénicos de centros de educación primaria de la ciudad de Iquitos.
- Continuar con estudios para evaluar el grado de infección de las cepas bacterianas aisladas de los fomites en estudio con la finalidad de determinar los posibles daños que podrían causar a la población que lo utiliza a diario.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Akinyemi D, Kabir O, Olabisi O, Akitoye O. 2009. The potential role of mobile phones in the spread of bacterial infections. *J. Infect Developing. Countries.*; 3(8): 628-32.

Arias KM. 2006. Contamination and cross contamination on hospital surfaces and medical equipment. [Internet]. [Citado el 27 de Ago. de 2014]. Disponible desde: <http://www.initiatives-patientsafety.org/Initiatives4.pdf>.

Bailey A & Scott K. 2007, *Diagnostico bacteriológico*, 12ed Panamericana, Argentina. [Internet]. [Citado el 12 de Jul. de 2015]. Disponible desde: <https://microbitos.wordpress.com/2011/09/27/pruebas-bioquimicas-primarias>.

Barzanallana R. 2011. Los cajeros automáticos tan sucios como un aseo público. [Internet]. [Citado el 28 de Feb. de 2015]. Disponible desde: <http://www.marisolcollazos.es/noticias-informatica/?cat=1024>.

Bures S, Fishbain JT, Uyehara CF, Parker JM, Berg BW. 2011. Bacterial contamination of mobile phones: When your mobile phone could convey more than a call. *Am J Infect Control.*; 28: 465-471.

Cozanitis D. & Grant J. 1978. Bacterial contamination of telephones in an intensive care unit. *Anaesthesist*. 9: 432-442.

Da Cunha S. & García E. 2012. Presencia de bacterias de importancia clínica en el hardware de computadoras del Hospital Iquitos “César Garayar García”. Para la obtención del título de Biólogo. 1: 1 – 30.

Flores G & Fierer N. 2013. Los baños públicos contienen cientos de patógenos. [Internet]. [Citado el 5 de Mar. de 2015]. Disponible desde: <http://www.abc.es/salud/noticias/20111128/abci-aseos-publicos-contaminados-201312040940.html>.

Goldblatt J, Krief I, Klonsky T, Haller D, Milloul V, Sixsmith D, Srugo I, Potasman I, Semmelweis I. 2007. Use of Cellular Telephones and Transmission of Pathogens by Medical Staff in New York and Israel, *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 28: 500-503.

Gomes C, De Assis L, Beirigo P, De Oliveira W, Casemiro L. 2008. Contaminação de Telefones Públicos em Franca, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*. 12: 127-136.

Hastings R. 2011. Teclado de cajero contaminado igual que un sanitario. [Internet]. [Citado el 3 de Mar. de 2015]. Disponible desde: <http://bienestar.salud180.com/salud-dia-dia/teclado-de-cajero-contaminado-igual-que-un-sanitario>.

Ibrahin R, Ibrahin H, Mansour N. 2012. Mobile phones and nosocomial infections. *J. Infect Control.* 8: 1-5.

Karabay O, Esra K, Mustafa T. 2007. Papel de los teléfonos móviles en la diseminación de bacterias que causan infecciones hospitalarias. *J Infect Developing Countries.* [Internet]. [Citado el 11 de Ene de 2014].p. 1:72-73. Disponible desde: [http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id\\_articulo=46309&id\\_seccion=2958&id\\_ejemplar=4691&id\\_revista=173](http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=46309&id_seccion=2958&id_ejemplar=4691&id_revista=173).

Kocoglu E, Karabay O, Tahtaci M. 2007. The role of mobile phone in the spread of bacteria associated with nosocomial infections. *J. Infect. Developing Countries.* 1:72-73.

Kravitz R. 2007. Baños: Donde Los Gérmenes Atacan. [Internet]. [Citado el 10 de Feb. de 2015]. Disponible desde: <http://www.issalatam.com/boletin30articulo5.html>.

León P. 2002. Los baños públicos y la mala fama que tienen. [Internet]. [Citado el 15 de Feb. de 2015]. Disponible desde: <http://www.diaadia.com.ar/tu-dia/tu-salud/banos-publicos-infecciones>.

MacFadin. B. 2003. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica, 3ed, Panamericana, Argentina. [Internet]. [Citado el 27 de Jul. de 2015]. Disponible desde: <https://sites.google.com/a/goumh.umh.es/practicasdemicrobiologia/indice/identificacion-bacteriana/prueba-del-o-f-oxidacion-fermentacion>.

Muñoz J, Varela L, Chavez P, Becerra A, Moreno M. 2012. Bacterias patógenas aisladas de teléfonos celulares del personal y alumnos de la Clínica Multidisciplinaria (CLIMUZAC) de la Unidad Académica de Odontología de la UAZ. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica. 31: 24 – 31.

Neely A. & Sittig D. 2002. Basic microbiologic and infection control information to reduce the potential transmission of pathogens to patients via computer hardware. J Am Med Inform Assoc. 9: 500–508.

Plowman R, Graves N, Griffin MA. 2001. The rate and cost of hospital-acquired infections occurring in patients admitted to selected specialties of a district

general hospital in England and the national burden imposed. *Journal of Hospital Infection*. 47: 198–209.

Pope T, Peter E, William W, Michael K, Thomas K. 2012. Bacterial contamination of paper currency. *Southern Medical Journal* 95 (12): 1408–10. PMID 12597308. [Internet]. [Citado el 27 de Mar. de 2015]. Disponible desde: <https://es.wikipedia.org/wiki/F%C3%B3mite>.

Rafferty, K. & Pancoast S. 1984. Brief report: Bacteriological sampling of telephones and other hospital staff hand-contact objects. *Infect. Control*. 5: 533-535.

Sait M, Duman Y, Serinda A, Semiha S, Kaysadu H, Tunc E, Yakupogullari Y. 2011. Study Finds Dangerous Bacteria on Cell Phones of Hospital Patients.

Sánchez V. 2013. Encuentran bacterias fecales en una docena de teléfonos públicos de Madrid. [Internet]. [Citado el 16 de Feb. De 2015]. Disponible desde: [http://www.antena3.com/noticias/sociedad/encuentran-bacterias-fecales-docena-telefonos-publicos-madrid\\_2013050700245.html](http://www.antena3.com/noticias/sociedad/encuentran-bacterias-fecales-docena-telefonos-publicos-madrid_2013050700245.html).

Singh V, Aggarwal V, Bansal S, Garg S, Chowdhary N. 1998. Telephone mouthpiece as a posible source of hospital infection. J. Assoc. Phys. India. 46: 372 – 373.

Soto RG, Chu LF, Goldman JM, Rampil IJ, Ruskin KJ. 2006. Communication in critical care environments: mobile telephones improve patient care. Anesthesia and Analgesia. 102: 535–41.

Tierno P. 2002. Cuidados en los baños públicos. [Internet]. [Citado el 2 de Feb. de 2015]. Disponible desde: <http://www.eluniverso.com/2002/06/09/0001/256/70C3CF0E96EF44248AD0F280AD58195A.html>.

Tresierra A. & Ruiz E. 2011. Manual del curso de Bacteriología. [Internet]. [Citado el 2 de Ago. de 2015]. Disponible desde: <http://www.myslide.es/documents/bacteriologia-559bf44f25c3c.html>.

Ulger F, Essen S, Dilek A, Yanik K, Gunaydin M, Leblebicioglu H. 2009. Are we aware how contaminated our mobile phones are with nosocomial pathogens? Ann Clin Microbial Antimicrob. 8: 7.

Velázquez R, Flores G, Dunn R. 2011. Sanitarios públicos parecen una fiesta de bacterias. [Internet]. [Citado el 1 de Mar. de 2015]. Disponible desde: [http://www.elcolombiano.com/sanitarios\\_publicos\\_parecen\\_una\\_fiesta\\_de\\_bacterias-GCEC\\_162712](http://www.elcolombiano.com/sanitarios_publicos_parecen_una_fiesta_de_bacterias-GCEC_162712).

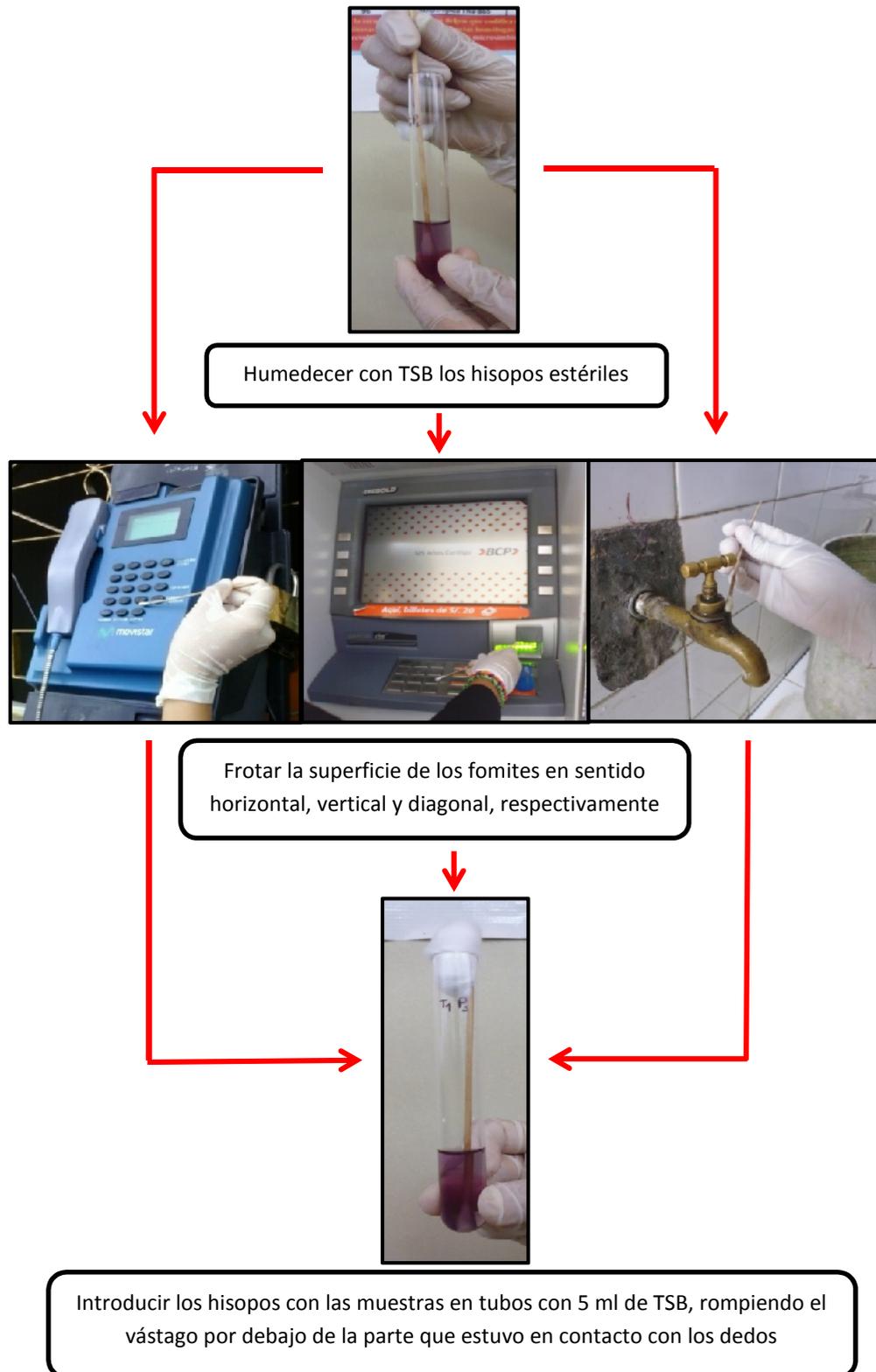
Yalowittz M. & Brook I. 2003. The recovery of bacteria from the hand piece of a high school telephone. *Environ Health Journal*. 6: 18-20.



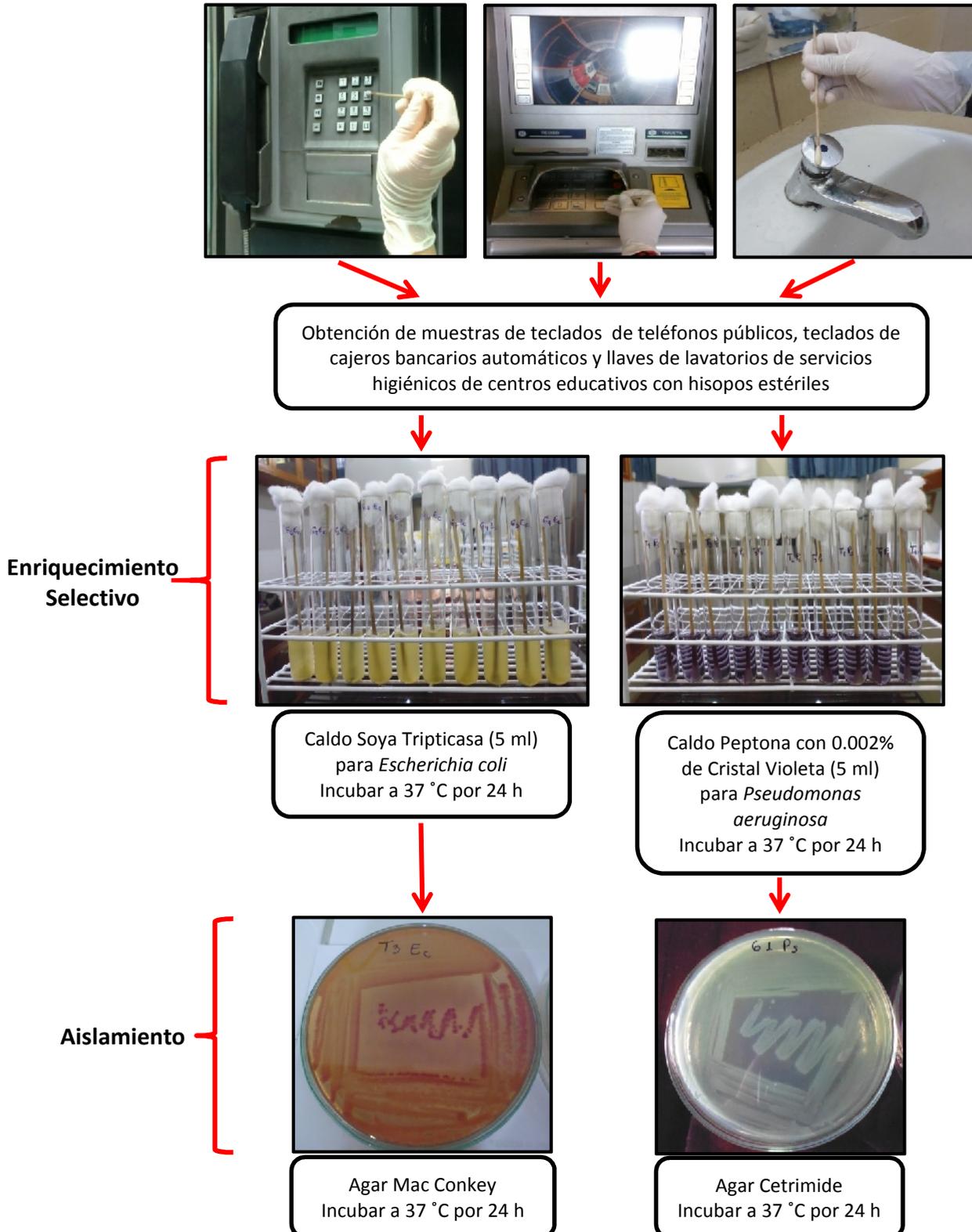
**IX. ANEXOS****Anexo 1. Mapa de ubicación del laboratorio donde se realizaron los ensayos microbiológicos (Ciudad de Iquitos)**

Fuente: Google earth

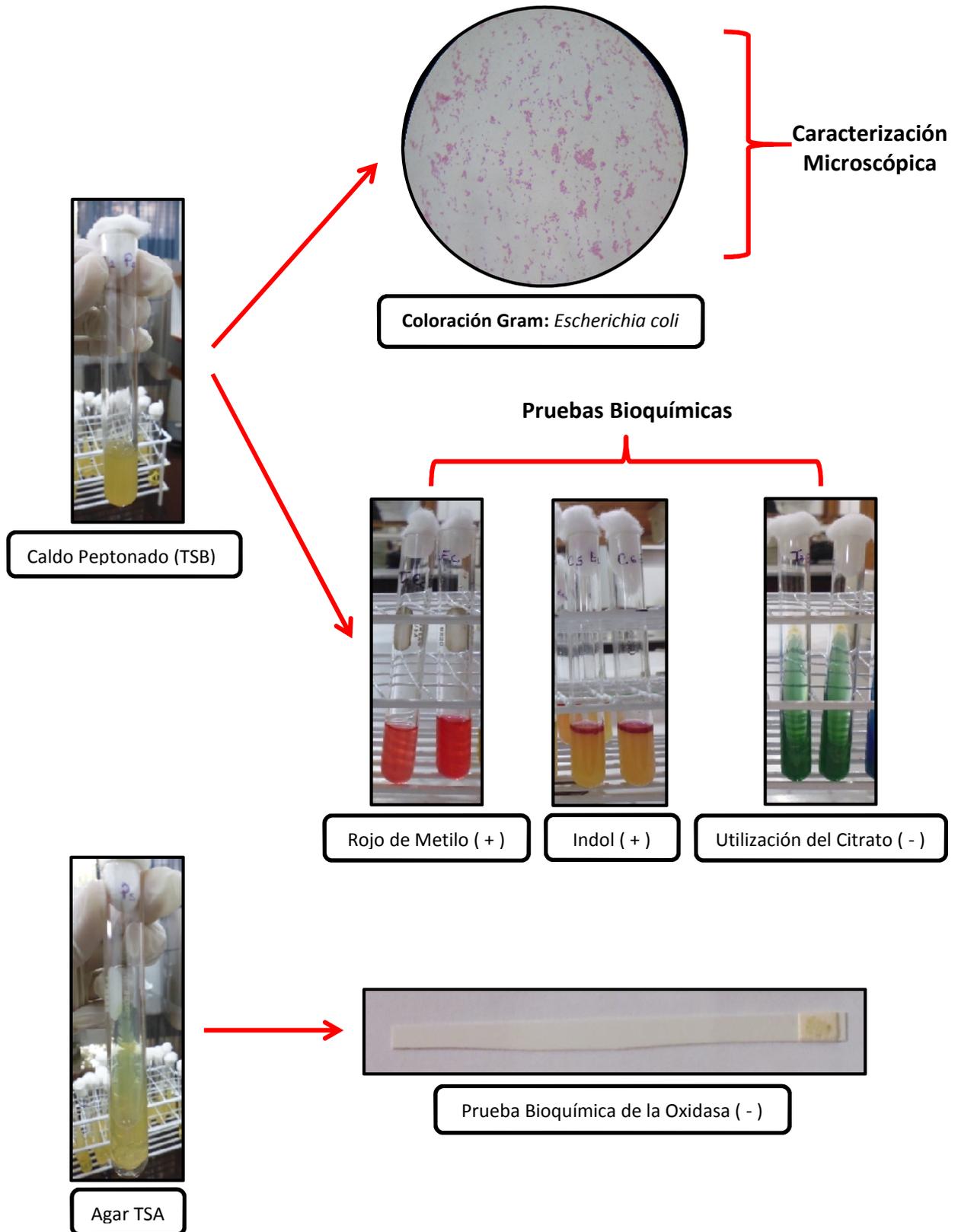
## Anexo 2. Flujo de obtención de muestras mediante la técnica del hisopado



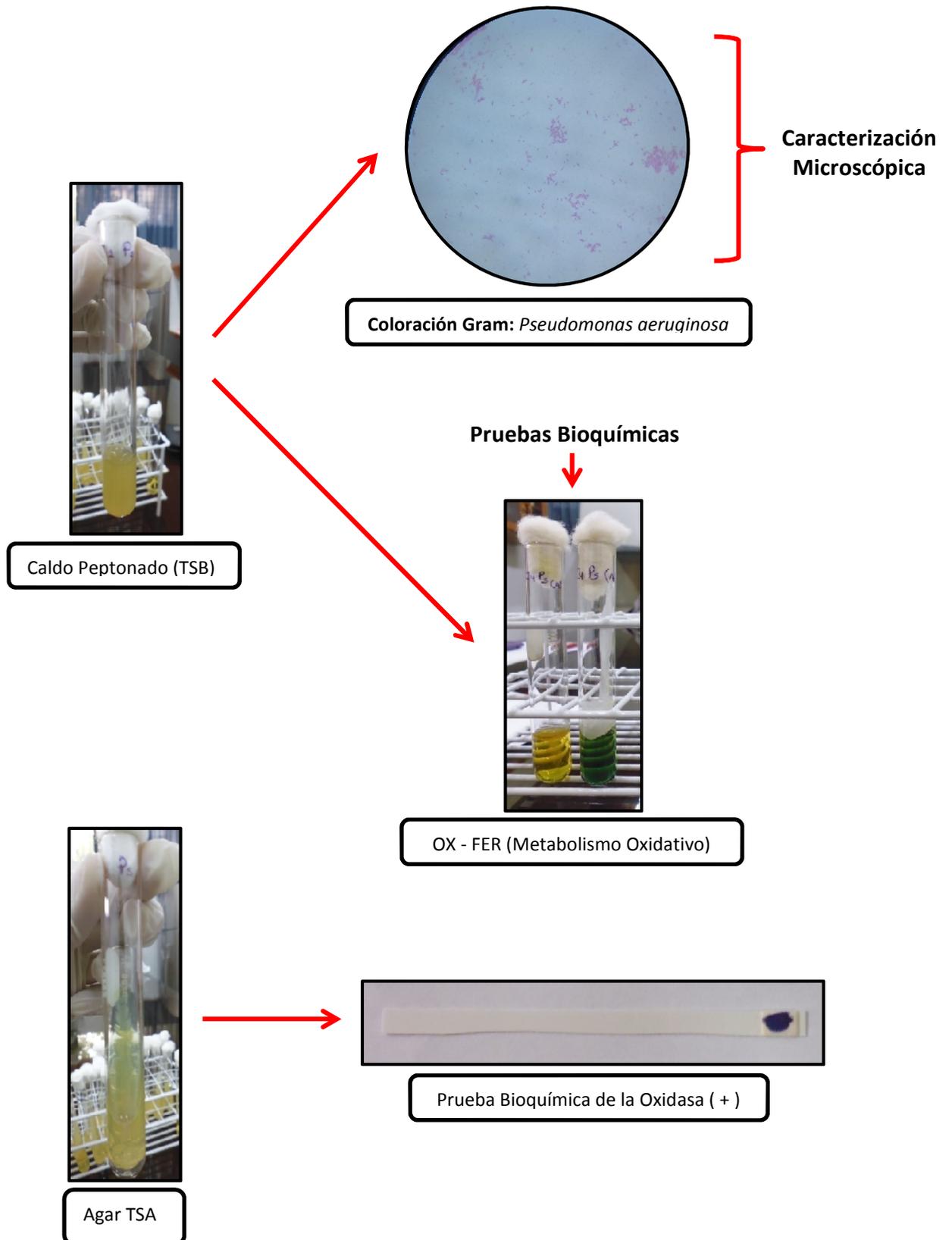
**Anexo 3. Flujograma de aislamiento de muestras obtenidas de teclados de teléfonos públicos, teclados de cajeros bancarios automáticos y llaves de lavatorios de servicios higiénicos de centros educativos**



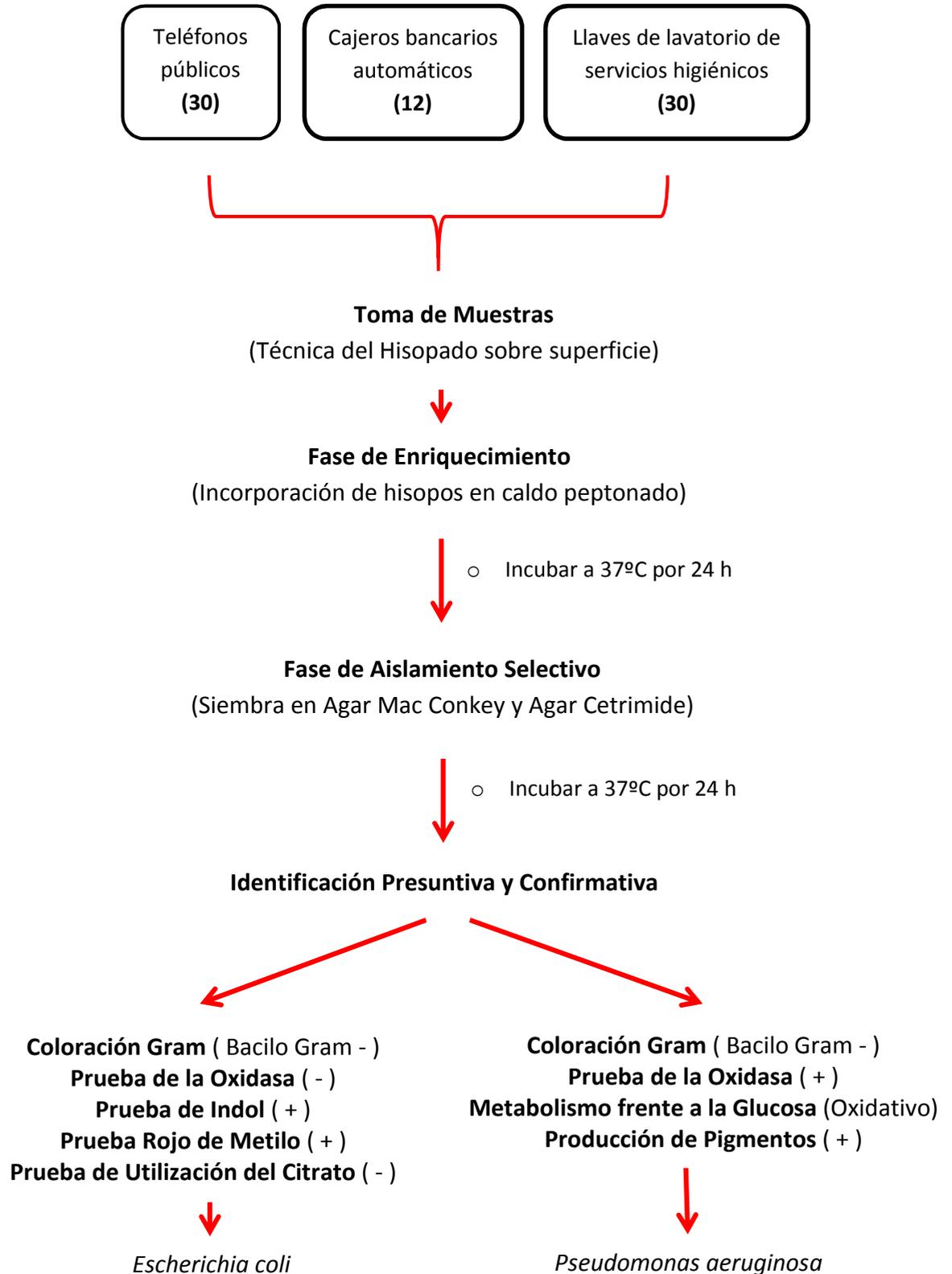
**Anexo 4. Flujoograma de Identificación de cepas de *Escherichia coli* mediante caracterización microscópica y pruebas bioquímicas**



**Anexo 5. Flujograma de Identificación de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* mediante caracterización microscópica y pruebas bioquímicas**



## Anexo 6. Flujoograma del proceso de obtención de las especies bacterianas en estudio



## **Anexo 7. Medios de Cultivo**

### **a). Caldo Soya Trypticasa (TSB)**

**Preparación:** Suspender 30 gr del medio en 1 L de agua destilada y disolver por calentamiento. Ajustar el pH a 7 y distribuir en tubos de ensayo con 5 ml. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

### **b). Caldo Peptona con 0.002 % de Cristal Violeta**

**Preparación:** Suspender 30 gr del medio en 1 L de agua destilada junto con 0.002 % de cristal violeta y disolver por calentamiento. Distribuir en tubos con 5 ml y esterilizar en autoclave a 121 ° C por 15 minutos.

### **c). Agar Mac Conkey**

**Preparación:** Suspender 50 gr del medio en 1 L de agua destilada por calentamiento, ajustar el pH a 7. Esterilizar en autoclave a 121 °C por 15 minutos.

### **d). Agar Cetrimide**

**Preparación:** Suspender 45.3 gr del medio en 1 L de agua destilada por calentamiento, dejar reposar por 15 minutos y añadir los 10 ml

de glicerina agitando el medio lentamente hasta su disolución total.

Esterilizar en autoclave a 121 °C por 15 minutos.

**e). Agar Soya Trypticosa (TSA)**

**Preparación:** Suspender 40 gr del medio en 1 L de agua destilada y disolver por calentamiento. Ajustar el pH a 7 y distribuir en tubos de ensayo con 5 ml. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

## **Anexo 8. Caracterización Microscópica**

### **a). Coloración Gram**

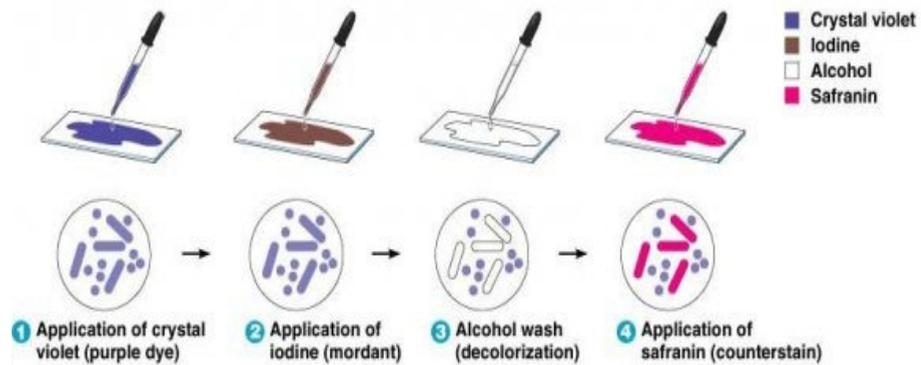
Esta técnica de coloración nos permite separar a la mayoría de las bacterias en dos grupos las gram positivas que se tiñen de color violeta y las gram negativas que se tiñe de color rosa. La diferencia en la tinción radica en las estructuras de la pared celular de las bacterias.

### **b). Procedimiento:**

- Colocar una gota de agua destilada en una lámina porta objetos limpia.
- Luego con la ayuda de un asa redonda estéril tomar un poco de muestra bacteriana a partir de una colonia aislada, emulsionar y extender la muestra de manera uniforme.
- Fijar la muestra con calentamiento moderado sobre la llama del mechero; teniendo en cuenta que el calor no debe ser directo, ya que el calor excesivo puede cambiar la morfología celular de las bacterias a observar.
- Cubrir la extensión fijada con solución Hacker o cristal violeta por 1 minuto.
- Lavar la extensión con agua destilada o corriente y cubrir inmediatamente con lugol dejando reposar por 2 minutos.
- Nuevamente lavar el extendido con agua corriente o destilada.

- Después se procede a decolorar la extensión con alcohol – acetona.
- Lavar nuevamente la extensión con agua corriente o destilada
- Cubrir la extensión con el colorante de contraste Safranina y dejar en reposo por 30 segundos.
- Lavar con agua corriente o destilada todo exceso de colorante y finalmente dejar secar la lámina a temperatura ambiente.
- Observar al microscopio con objetivo de inmersión de A: 100 X, colocando previamente sobre la lámina una gota de aceite de cedro.

### c). Esquema de la Coloración Gram



## Anexo 9. Pruebas Bioquímicas

### a). Para *Pseudomonas aeruginosa*

#### Prueba de Oxido Fermentación de Hunggh y Leifson -Medio OX/FER

Es una prueba que indica del tipo de metabolismo energético: respiratorio (O) o fermentador (F).

Composición	Concentración (g/L)
Peptona de caseína	2.0
Extracto de levadura	1.0
Cloruro de sodio	5.0
Hidrogenofosfato di potásico	0.3
Azul de bromotinol	0.08
Agar – agar	2.5

**Preparación:** Suspender cada uno de los componentes en 1L de agua destilada. Se dejar reposar por 15 min y calentar agitando frecuentemente hasta su disolución total. Tras su distribución en cantidades de 100 ml. en matraces se procederá a esterilizar en auto clave a 121 °C por 15 minutos.

Después de su enfriamiento a unos 50 °C, añadir mezclando a cada 100 ml. del medio de cultivo basal, 10 ml. de solución acuosa de Glucosa al 10 %. Finalmente distribuir en tubos de ensayo a razón de 5 ml. dejando enfriar en posición recta.

La prueba bioquímica OX/FER se realizó de la siguiente manera:

Se utilizó dos tubos estériles, luego se cogió una asa recta flameándolo en el mechero de alcohol, después se tomó un poco de bacteria a partir de una colonia aislada, posteriormente la bacteria se inoculó en ambos tubos por el método de picadura y finalmente se incubó a 37 °C por 24h en condiciones de aerobiosis (sin parafina) y de anaerobiosis (con parafina).

**Interpretación:**

**Ambos tubos verdes:** negativo o no sacarolítico debido a que no consume glucosa.

**Ambos tubos amarillo:** Metabolismo facultativo.

**Tubo verde y tubo amarillo:** Metabolismo Oxidativo

**b). Para *Escherichia coli***

**1). Prueba de Producción de Ácidos, Rojo de Metilo - Caldo Glucosado**

La prueba del rojo de metilo es cuantitativa para la producción de ácido y requiere organismos positivos que produzcan ácidos fuertes (láctico, acético, fórmico) a partir de la glucosa, por la vía de la fermentación acida mixta. Dada que son muchas las especies de enterobacterias que pueden producir cantidades suficientes de ácidos fuertes detectables con el indicador rojo de metilo durante las

fases iniciales de la incubación, solo se considera rojo de metilo positivos aquellos organismos que pueden mantener este pH bajo luego de una incubación prolongada (48 a 72 horas), contrarrestando el sistema estabilizador de pH del medio.

Composición	Concentración (g/L)
Peptona	7.0
Fosfato di potásico	5.0
Dextrosa	5.0

**Preparación:** Disolver los componentes en 1L de agua destilada a calor suave, ajustar el pH a 7.0. Repartir en tubos a razón de 3 ml. y esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos.

**Interpretación:**

**Prueba positiva.** Color rojo estable, indicando que el microorganismo realiza la fermentación de la glucosa por la vía ácido-mixta y el pH del medio se torna hasta 4.2 por la gran cantidad de ácidos orgánico producidos.

**Prueba negativa.** Color anaranjado, intermedio entre rojo y amarillo.

**2). Prueba de Producción de INDOL - Caldo Peptonado**

La prueba de indol se puede detectar en un medio apropiado observando el desarrollo de color rojo luego de añadir un reactivo que contiene p-dimetilaminobenzaldehído (reactivos de Ehrlich o de Kovacs).

La producción de indol es una característica importante para la identificación de muchas especies de microorganismos, siendo especialmente útil para diferenciar *Escherichia coli* (positiva) de miembros del grupo Klebsiella-Enterobacter (la mayoría negativos).

Composición	Concentración (g/L)
Peptona	20.0
Cloruro de Sodio	5.0

**Preparación:** Disolver los componentes en 1L de agua destilada, ajusta el pH a 7.0. Repartir en tubos a razón de 3 ml y esterilizar en autoclave a 121 °C por 15 minutos.

### Interpretación

**Positivo:** Desarrollo de un indol de color rojo intenso en la superficie, y como mínimo debe permanecer de 20 a 30 segundos. Para luego dar una lectura más precisa a la prueba bioquímica.

**Negativo:** Aparición de un indol de color amarillo, o sin cambio de coloración del medio.

### 3). Prueba de Utilización del Citrato - Agar Citrato de Simons

Esta prueba sirve para determinar si un organismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono y compuestos amoniacales como única fuente de nitrógeno en su metabolismo, provocando una alcalinización del medio.

Se cultiva el microorganismo en agar citrato de Simmons. Este medio contiene citrato de sodio, fosfato de amonio y azul de bromotimol como indicador de pH. Sólo las bacterias capaces de metabolizar el citrato podrán multiplicarse en este medio y liberarán iones amonio lo que, junto con el metabolismo del citrato, generará una fuerte basificación del medio que será aparente por un cambio de color del mismo, de verde a azul.

Composición	Concentración (g/L)
Fosfato monoamónico	1.0
Fosfato di potásico	1.0
Cloruro de sodio	5.0
Sulfato de magnesio	0.2
Citrato de sodio	2.0
Azul de bromotimol	0.08
Agar – agar	15.0

**Preparación:** Disolver los componentes en 1L de agua destilada a calor, ajustar el pH a 7.0 Repartir en tubos a razón de 4 ml y esterilizar en autoclave a 121 °C por 15 minutos. Dejar solidificar en inclinación.

**Interpretación:**

**Positivo:** Medio de color azul intenso ya que el organismo en estudio ha sido capaz de utilizar el citrato contenido en el medio, con la formación de productos alcalinos.

La prueba es también positiva en ausencia de color azul si existe un desarrollo de colonias a lo largo de la estría de inoculación.

La interpretación positiva a partir del desarrollo en la línea de siembra se puede confirmar incubando el tubo durante 24 horas más, en que usualmente aparece un color azul.

**Negativo:** El medio seguirá siendo de color verde.

**c). Para *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli***

**1). Prueba de Oxidasa**

Esta prueba está basada en la identificación de una enzima bacteriana llamada Citocromo C oxidasa y para reducir el nombre se le dice oxidasa.

**Oxidasa positiva:** Significa que la bacteria si posee Citocromo C oxidasa, por lo que puede usar oxígeno en la producción de energía con una cadena de transporte de electrones.

**Oxidasa negativa:** Las enterobacterias es la típica oxidasa negativa. El que no la poseen significa que no puede usar el oxígeno en la cadena de transferencia de electrones o aplican una citocromo diferente para transferir electrones al oxígeno.

## 2). Reactivos usados en la prueba de oxidasa

Se utilizan colorantes cromógenos que actúan como aceptadores artificiales de electrones que sustituyen de cierta manera al oxígeno usado por la bacteria, los más usados son:

- Tetrametil-p-fenilendiamina
- Dimetil-p-fenilendiamina
- Indofenol.

El reactivo basado en una disolución acuosa de tetrametil-p-fenilendiamina al 1%, es el más común y recibe el nombre de reactivo de Kovacs. Este reactivo se puede impregnar en discos o fragmentos de papel filtro grueso. En el comercio ya se venden tiras o discos impregnados con el reactivo.

El reactivo de Kovacs es incoloro pero al ponerlo en contacto con la enzima Citocromo C oxidasa cambia a un color morado debido a que el tetrametil-p-fenilendiamina es una amina aromática y la oxidación de esta produce quinolonas de color morado-azulado.

## 3). Interpretación

**Oxidasa positiva:** Se observó una coloración azul - violeta en un lapso no mayor a 30 segundos.

**Oxidasa Negativa:** No se observó ningún color en la tira reactiva.

**Anexo 10. Presencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en teclados de teléfonos públicos de la ciudad de Iquitos**

<b>Código de Teléfono Publico</b>	<b>Ubicación</b>	<b>Presencia <i>Escherichia coli</i></b>	<b>Presencia <i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>
T1	Cabina de Internet	+	+
T2	Farmacia	-	-
T3	Bodega	-	-
T4	Farmacia	+	-
T5	Fotocopiadora	-	+
T6	Bodega	+	-
T7	Bodega	-	-
T8	Bodega	-	-
T9	Bodega	+	-
T10	Bodega	-	-
T11	Hospital	-	-
T12	Hospital	-	-
T13	Hospital	-	-
T14	Hospital	-	-
T15	Hospital	-	-
T16	Laboratorio clínico	+	-
T17	Laboratorio clínico	-	-
T18	Farmacia	-	-
T19	Farmacia	-	-
T20	Bodega	-	-
T21	Puesto de comida	-	-
T22	Puesto de comida	-	-
T23	Farmacia	-	-
T24	Puesto de comida	-	-
T25	Puesto de comida	-	-
T26	Ferretería	-	-
T27	Bodega	-	-
T28	Bodega	-	-
T29	Bodega	-	-
T30	Cabina pública	-	-

**Anexo 11. Presencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en llaves de lavatorio de servicios higiénicos de Centros Educativos de la ciudad de Iquitos**

<b>Código de Llave de lavatorio</b>	<b>Ubicación</b>	<b>Presencia <i>Escherichia coli</i></b>	<b>Presencia <i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>
G1	Baño colegio MORB	-	+
G2	Baño colegio MORB	-	+
G3	Baño colegio MORB	-	-
G4	Baño colegio MORB	+	-
G5	Baño colegio MORB	-	+
G6	Baño colegio MORB	-	+
G7	Baño colegio Sofía Lecca Vargas	+	-
G8	Baño colegio Sofía Lecca Vargas	-	-
G9	Baño colegio Sofía Lecca Vargas	-	-
G10	Baño colegio Sagrado Corazón	-	-
G11	Baño colegio Sagrado Corazón	+	-
G12	Baño colegio Sagrado Corazón	+	-
G13	Baño colegio Sagrado Corazón	-	-
G14	Baño colegio Sagrado Corazón	-	-
G15	Baño colegio Sagrado Corazón	+	-
G16	Baño colegio Sagrado Corazón	+	+
G17	Baño colegio Sagrado Corazón	+	-
G18	Baño colegio Sagrado Corazón	-	-
G19	Baño colegio Sagrado Corazón	-	-
G20	Baño colegio República de Venezuela	-	-
G21	Baño colegio República de Venezuela	-	+
G22	Baño colegio República de Venezuela	-	-
G23	Baño colegio República de Venezuela	-	+
G24	Baño colegio República de Venezuela	-	+
G25	Baño colegio República de Venezuela	-	+
G26	Baño colegio República de Venezuela	+	-
G27	Baño colegio República de Venezuela	+	-
G28	Baño colegio República de Venezuela	-	-
G29	Baño colegio República de Venezuela	-	-
G30	Baño colegio República de Venezuela	-	-

**Anexo 12. Presencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en teclados de cajeros bancarios automáticos de la ciudad de Iquitos**

Código de Cajero bancario	Ubicación	Presencia <i>Escherichia coli</i>	Presencia <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
C1	Banco Interbank	-	+
C2	Banco Interbank	-	+
C3	Banco Interbank	-	-
C4	Banco Interbank	+	+
C5	Banco Interbank	+	-
C6	Banco BCP	-	-
C7	Banco BCP	+	-
C8	Banco BCP	+	-
C9	Banco BCP	-	+
C10	Banco BCP	+	+
C11	Banco BCP	+	+
C12	Banco BCP	-	+

**Anexo 13. Tabla de contingencia de los datos de Chi Cuadrado**

Tabla de Contingencia	
Grados de libertad: (G)	2
Chi Cuadrado: ( $X^2$ )	1.261
Probabilidad: (p)	0.5324

Fuente: Anexo 7, 8 y 9

**Anexo 14. Tabla de contingencia de los datos de Chi Cuadrado**

Tabla de Contingencia	
Grados de libertad: (G)	2
Chi Cuadrado: ( $X^2$ )	16.28
Probabilidad: (p)	0.003

Fuente: Anexo 7, 8 y 9