



UNIVERSIDAD DE CUENCA

**UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**



**“INVESTIGACIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* Y *COLIFORMES* EN LOS
TECLADOS DE LAS COMPUTADORAS DEL CENTRO DE DOCUMENTACIÓN
REGIONAL JUAN BAUTISTA VÁSQUEZ”**

TESIS PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORES:

HERNÁN MARCELO ORTIZ SAGBA

IGNACIO MARCELO MÉNDEZ URDIALES.

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. MARIA DE LOURDES JERVES ANDRADE

CUENCA - ECUADOR

2013



RESUMEN

Esta investigación está basada en la determinación de *Staphylococcus aureus* y *coliformes* en los teclados de las computadoras del Centro de Documentación Regional Juan Bautista Vásquez” (CDRJBV) del campus central de la Universidad de Cuenca ubicado en la avenida 12 de abril y avenida Loja.

En este estudio se logró evidenciar la presencia de bacterias potencialmente patógenas para el ser humano. Se tomó 61 muestra aleatorias de los teclados utilizando hisopos estériles y se sembró por triplicado en agar sangre, agar EMB y agar manitol, para recuperar e identificar a cada una de las bacterias presentes en los teclados del CDRJBV, siendo las más frecuentes *Staphylococcus aureus* (14,8%) y *coliformes* (45,8%).

Por otro lado se realizó un ensayo de valoración de la desinfección por tiempo de contacto y dosificación del desinfectante usado en el CDRJBV para verificar su eficacia, encontrándose que al 100% de su concentración cumple con su propósito.

Palabra clave: teclados de computadoras, desinfectantes, *Staphylococcus aureus*, *coliformes*.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ABSTRACT

This research is based on the identification of *Staphylococcus aureus* and coliform in computer keyboards Regional Documentation Centre Juan Bautista Vasquez "(CDRJBV) the central campus of the University of Cuenca located on Avenue and Avenue April 12 Loja.

In this study it was possible to demonstrate the presence of potentially pathogenic bacteria to humans. It took 61 random sample of keyboards using sterile swabs and plated in triplicate on blood agar, EMB agar and mannitol to recover and identify each of the bacteria in CDRJBV keyboards , the most common being *Staphylococcus aureus* (14.8 %) and coliforms (45.8 %) .

In addition we performed a titration assay disinfection contact time and dosage of the disinfectant used in the CDRJBV for effectiveness, finding that 100% of your concentration fulfills its purpose .

Keyword: computer keyboards, disinfectants, *Staphylococcus aureus*, coliforms.



ÍNDICE

Pág.

| | |
|---|----|
| RESUMEN..... | 1 |
| DEDICATORIA | 11 |
| AGRADECIMIENTO | 16 |
| INTRODUCCIÓN..... | 16 |
| CAPÍTULO 1 | 18 |
| 1. MARCO TEÓRICO | 18 |
| 1.1. BACTERIA..... | 18 |
| 1.1.1. DEFINICIÓN | 18 |
| 1.1.2. MORFOLOGÍA | 18 |
| 1.1.3. CLASIFICACIÓN..... | 18 |
| 1.2. GÉNERO <i>ESTAFILOCOCO</i> | 19 |
| 1.2.1. CARACTERÍSTICAS..... | 19 |
| 1.2.2. MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA | 20 |
| 1.2.3. MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA..... | 20 |
| 1.2.4. METABOLISMO | 21 |
| 1.2.5. RESISTENCIA A AGENTES FÍSICOS Y QUÍMICOS | 21 |
| 1.3. CLASIFICACIÓN DE <i>ESTAFILOCOCOS</i> SEGÚN LA PRUEBA DE LA COAGULASA..... | 21 |
| 1.3.1. <i>ESTAFILOCOCOS</i> COAGULASA NEGATIVA | 21 |
| 1.3.2. <i>ESTAFILOCOCOS</i> COAGULASA POSITIVA..... | 22 |
| 1.3.3. ESTRUCTURA..... | 24 |
| 1.3.4. ENFERMEDADES CAUSADAS FRECUENTEMENTE POR <i>S. AUREUS</i> | 27 |
| 1.3.5. EPIDEMIOLOGÍA..... | 28 |
| 1.4. COLIFORMES | 29 |
| 1.4.1. DEFINICIÓN | 29 |
| 1.4.2. BACTERIUM | 29 |
| 1.4.3. COLIFORME | 29 |



| | |
|---|----|
| 1.4.4. COLIFORMES TOTALES Y COLIFORMES FECALES | 30 |
| 1.5. ENFERMEDADES CAUSADAS POR BACTERIAS COLIFORMES..... | 31 |
| 1.6. <i>Escherichia coli</i> | 32 |
| 1.7. <i>Klebsiella</i> | 33 |
| 1.8. <i>Enterobacter</i> | 34 |
| 1.9. <i>Citrobacter</i> | 34 |
| 1.10. DESCRIPCIÓN DEL LUGAR DE INVESTIGACIÓN | 34 |
| 1.10.1. TECLADO | 35 |
| CAPÍTULO 2 | 36 |
| 2. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 36 |
| 2.1. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN | 36 |
| 2.1.1. Tipo de investigación..... | 36 |
| 2.1.2. Planteamiento del diseño. | 36 |
| 2.2. METODOLOGÍA DE TRABAJO | 36 |
| 2.3. POBLACIÓN DE ESTUDIO | 36 |
| 2.4. MUESTREO | 37 |
| 2.5. TAMAÑO DE LA MUESTRA..... | 39 |
| 2.6. TOMA DE MUESTRA..... | 39 |
| 2.6.1. SOLUCIÓN SALINA ESTÉRIL | 40 |
| 2.6.2. CALDO TRIPTICASA SOYA | 40 |
| 2.6.3. TÉCNICA PARA LA TOMA DE MUESTRA | 40 |
| 2.7. TÉCNICA PARA CULTIVAR <i>Staphylococcus aureus</i> | 41 |
| 2.7.1. INOCULACIÓN | 41 |
| 2.7.2. INCUBACIÓN..... | 41 |
| 2.7.3. INTERPRETACIÓN..... | 41 |
| 2.8. TÉCNICA PARA CULTIVAR COLIFORMES | 44 |
| 2.8.1. INOCULACIÓN | 44 |
| 2.8.2. INCUBACIÓN..... | 44 |
| 2.8.3. INTERPRETACIÓN..... | 44 |
| 2.8.4. PRUEBAS CONFIRMATORIAS PARA COLIFORMES | 45 |
| 2.9. PRUEBAS BIOQUÍMICAS Y MEDIOS DE CULTIVO | 48 |



| | |
|---|----|
| 2.9.1. SOLUCIÓN SALINA 0,9% | 48 |
| 2.9.2. CALDO TRIPTICASA SOYA | 48 |
| 2.9.3. AGAR SANGRE | 49 |
| 2.9.4. AGAR MANITOL | 50 |
| 2.9.5. AGAR EMB | 51 |
| 2.9.6. AGAR CITRATO | 52 |
| 2.9.7. AGAR UREA (Prueba de la Ureasa) | 53 |
| 2.9.8. AGAR LIA (Agar Hierro Lisina) | 53 |
| 2.9.9. AGAR KLIGLER | 54 |
| 2.9.10. AGAR SIM..... | 55 |
| 2.9.11. CALDO MR-VP | 56 |
| 2.3. MATERIALES Y REACTIVOS..... | 57 |
| 2.4. VALORACIÓN DE LA DESINFECCIÓN POR TIEMPO DE CONTACTO Y DOSIFICACIÓN DEL DESINFECTANTE..... | 58 |
| 2.4.1. DEFINICIÓN DE DESINFECTANTE | 58 |
| 2.4.2. CARACTERÍSTICAS DEL DESINFECTANTE IDEAL | 58 |
| 2.4.3. MÉTODOS | 59 |
| 2.5. PROCEDIMIENTO | 60 |
| 2.5.1. PREPARACIÓN DE LA SUSPENSIÓN VALORADA DE BACTERIAS..... | 60 |
| 2.5.2. PREPARACIÓN DE LA SUSPENSIÓN DE TIERRA ÓRGANICA AL 0.3 Y 1% 60 | |
| 2.5.3. PREPARACIÓN DE LAS DILUCIONES DEL DESINFECTANTE | 61 |
| 2.5.4. CULTIVO DE LOS MICROORGANISMOS EN LAS DILUCIONES DEL DESINFECTANTE | 61 |
| 2.6. INTERPRETACIÓN | 62 |
| CAPÍTULO 3 | 63 |
| 3.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 63 |
| 3.1.1. NIVEL DE CONTAMINACION MICROBIANA..... | 63 |
| 3.1.2. MICROORGANISMOS AISLADOS EN LOS TECLADOS | 64 |
| 3.2. CONTAMINACIÓN MICROBIANA Y LOCALIZACIÓN DE LAS COMPUTADORAS | 67 |
| 3.2.1. PORCENTAJE DE <i>Staphylococcus</i> COAGULASA NEGATIVA EN RELACIÓN CON LA LOCALIZACIÓN..... | 68 |



| | |
|--|----|
| 3.2.2. PORCENTAJE DE <i>Staphylococcus aureus</i> EN RELACIÓN CON LA LOCALIZACIÓN..... | 70 |
| 3.2.3. PORCENTAJE DE COLIFORMES EN RELACIÓN CON LA LOCALIZACIÓN | 71 |
| 3.3. MICROORGANISMOS Y NIVEL DE ACCESO | 73 |
| 3.3.1. PORCENTAJE DE <i>Staphylococcus</i> COAGULASA NEGATIVA EN RELACIÓN CON EL NIVEL DE ACCESO A LAS COMPUTADORAS..... | 74 |
| 3.3.2. PORCENTAJE DE COLIFORMES EN RELACIÓN CON EL NIVEL DE ACCESO A LAS COMPUTADORAS..... | 75 |
| 3.3.3. PORCENTAJE DE <i>Staphylococcus aureus</i> EN RELACIÓN CON EL NIVEL DE ACCESO A LAS COMPUTADORAS..... | 76 |
| 3.4. VALORACIÓN DE LA DESINFECCIÓN POR TIEMPO DE CONTACTO Y DOSIFICACIÓN DEL DESINFECTANTE..... | 78 |
| 3.5. CONCLUSIONES..... | 80 |
| 3.6. RECOMENDACIONES..... | 81 |
| BIBLIOGRAFÍA:..... | 82 |
| ANEXOS..... | 86 |



ÍNDICE DE TABLAS

| | Pág. |
|---|------|
| TABLA 1: Características principales del género <i>Staphylococcus</i> | 20 |
| TABLA 2: Epidemiología de los <i>Estafilococos</i> coagulasa negativos..... | 22 |
| TABLA 3: Clasificación científica de coliformes..... | 30 |
| TABLA 4: Géneros pertenecientes a coliformes..... | 30 |
| TABLA 5: Enfermedades producidas por coliformes..... | 32 |
| TABLA 6: Cuadro del número de computadoras por piso..... | 37 |
| TABLA 7: Cronograma de trabajo para la determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> y coliformes..... | 38 |
| TABLA 8: Resultados de Prueba Bioquímica de <i>Escherichia coli</i> | 47 |
| TABLA 9: Posibles resultados de la prueba MR-VP al añadir los diferentes reactivos por separado..... | 57 |
| TABLA 10: Interpretación de acción del desinfectante..... | 62 |
| TABLA 11: Microorganismos detectados en teclados de computadoras de estudios similares al presente..... | 66 |
| TABLA 12: Cantidad de microorganismos diferentes según localización de las computadoras..... | 68 |
| TABLA 13: Cantidad de microorganismos diferentes según nivel de acceso o personal que utiliza las computadoras..... | 73 |
| TABLA 14: Capacidad desinfectante por tiempo de contacto y dosificación..... | 78 |



ÍNDICE DE FIGURAS

| | Pág. |
|---|------|
| Figura 1: Estructura de bacteria grampositiva y gramnegativa..... | 19 |
| Figura 2: Morfología de <i>Staphylococcus aureus</i> | 22 |
| Figura 3: Colonias pigmentadas y β -hemolíticas de <i>Staphylococcus aureus</i> en un medio de agar sangre..... | 24 |
| Figura 4: Estructura de la pared de los microorganismos del género <i>Staphylococcus</i> | 25 |
| Figura 5: Morfología de bacilos Gram Negativos..... | 29 |
| Figura 6: Morfología de <i>Escherichia coli</i> | 33 |
| Figura 7: Teclados que usan diariamente los estudiantes el CDJBV..... | 35 |
| Figura 8: β hemólisis en agar sangre..... | 42 |
| Figura 9: Colonias <i>S. aureus</i> [Agar Manitol]..... | 42 |
| Figura 10: Cocos Gram Positivos [Tinción Gram]..... | 43 |
| Figura 11: Prueba de la catalasa [catalasa positiva]..... | 43 |
| Figura 12: Prueba de la coagulasa [coagulasa positiva]..... | 43 |
| Figura 13: Colonias <i>E. coli</i> [Agar EMB] | 44 |
| Figura 14: Bacilos Gram Negativos [Tinción Gram] | 45 |
| Figura 15: A: Prueba oxidasa negativa. B: Prueba de oxidasa positiva..... | 45 |
| Figura 16: Pruebas bioquímicas [<i>E. coli</i>]..... | 46 |



ÍNDICE DE GRÁFICOS.

| | Pág. |
|--|-------------|
| Gráfico 1. Nivel de contaminación microbiológica en los teclados de estudio..... | 63 |
| Gráfico 2. Microorganismos potencialmente patógenos detectados en los teclados del Centro de Documentación Regional “Juan Bautista Vásquez” | 65 |
| Gráfico 3. Relación entre la frecuencia relativa (%) de <i>Staphylococcus coagulasa</i> negativa y la localización de los teclados (P=0,0171)..... | 69 |
| Gráfico 4. Relación entre la frecuencia (%) de <i>Staphylococcus aureus</i> y la localización de los teclados (P=0,1550)..... | 70 |
| Gráfico 5. Relación entre la frecuencia (%) de coliformes y la localización de los teclados (P=0,090)..... | 71 |
| Gráfico 6. Frecuencia relativa de <i>Staphylococcus coagulasa</i> negativa entre los teclados empleados por estudiantes o personal general y aquellos exclusivamente de los trabajadores..... | 74 |
| Gráfico 7. Frecuencia relativa de coliformes entre los teclados empleados por estudiantes o personal general y aquellos exclusivamente de los trabajadores..... | 75 |
| Gráfico 8. Frecuencia relativa de <i>Staphylococcus aureus</i> entre los teclados empleados por estudiantes o personal general y aquellos exclusivamente utilizados por los trabajadores..... | 76 |



ÍNDICE DE ANEXOS

| | Pág. |
|--|-------------|
| Anexo 1: Metodología de trabajo..... | 86 |
| Anexo 2: Técnica de hisopado para la toma de muestra..... | 87 |
| Anexo 3: Preparación de suero fisiológico al 0.9 %..... | 88 |
| Anexo 4: Preparación de caldo tripticasa soya..... | 88 |
| Anexo 5: Preparación de agar sangre..... | 89 |
| Anexo 6: Preparación de agar manitol..... | 90 |
| Anexo 7: Preparación de agar EMB..... | 90 |
| Anexo 8: Preparación de agar citrato..... | 91 |
| Anexo 9: Preparación de agar urea..... | 91 |
| Anexo 10: Preparación de agar Lia..... | 92 |
| Anexo 11: Preparación de agar Kligler..... | 93 |
| Anexo 12: Preparación de agar SIM..... | 93 |
| Anexo 13: Preparación de caldo MR-VP..... | 94 |
| Anexo 14: Valoración de la desinfección por tiempo de contacto y dosificación del desinfectantes..... | 95 |
| Anexo 15: Valoración de desinfectantes (materiales y reactivos)..... | 96 |
| Anexo 16: valoración de desinfectantes (resultados)..... | 97 |



UNIVERSIDAD DE CUENCA



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Hernán Marcelo Ortiz Sagba, autor de la tesis "Investigación de *Staphylococcus aureus* y *coliformes* en los teclados de las computadoras del Centro de Documentación Regional Juan Bautista Vásquez", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 15 de noviembre de 2013

Hernán Marcelo Ortiz Sagba
0604146043

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



UNIVERSIDAD DE CUENCA



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Hernán Marcelo Ortiz Sagba, autor de la tesis "Investigación de *Staphylococcus aureus* y *coliformes* en los teclados de las computadoras del Centro de Documentación Regional Juan Bautista Vásquez", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímico Farmacéutico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 15 de noviembre de 2013

Hernán Marcelo Ortiz Sagba
0604146043

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316
e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



UNIVERSIDAD DE CUENCA



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Ignacio Marcelo Méndez Urdiales, autor de la tesis "Investigación de *Staphylococcus aureus* y *coliformes* en los teclados de las computadoras del Centro de Documentación Regional Juan Bautista Vásquez", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímico Farmacéutico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 15 de noviembre de 2013

Ignacio Marcelo Méndez Urdiales
0104906086



UNIVERSIDAD DE CUENCA



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Ignacio Marcelo Méndez Urdiales, autor de la tesis "Investigación de *Staphylococcus aureus* y *coliformes* en los teclados de las computadoras del Centro de Documentación Regional Juan Bautista Vásquez", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 15 de noviembre de 2013

Ignacio Marcelo Méndez Urdiales
0104906086



UNIVERSIDAD DE CUENCA

DEDICATORIA

Esta tesis la dedico con todo mi cariño para todas las personas con las que tuve el gusto de tratar durante estos largos años universitarios, en especial se la dedico a mis padres quienes no permitieron que me rinda en ningún momento y que siempre creyeron en mí; a mis amigos que alegraron mi estadía haciéndola parecer más corta; y a mis maestros que con paciencia y empeño sembraron el deseo de superación.

IGNACIO MÉNDEZ URDIALES

Dedico este trabajo fruto de mi esfuerzo y dedicación, a Dios y a la Virgen Santísima por darme los conocimientos, paciencia, salud y perseverancia para seguir adelante y cumplir con mi sueño tan anhelado de ser un Bioquímico Farmacéutico.

A mí querida esposa Sandra y mi bella pequeña hija Kerlly quienes son el pilar fundamental de mí vida que con su tiempo y paciencia supieron apoyarme y comprenderme durante mi carrera universitaria, gracias a ellas he culminado una de las etapas de mi vida.

A mis padres, María Dolores Sagba, Marcelo Ortiz y a mis suegros Manuel Sinaluisa y Magdalena Checa que fueron incondicionales durante mi vida universitaria, quienes con su apoyo, consejos y valores supieron guiarme por el camino del bien.

A mis hermanas, hermano y familiares por sus consejos valiosos estoy inmensamente agradecido ya que son una parte fundamental en mi vida.

HERNÁN ORTIZ SAGBA.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

AGRADECIMIENTO

A la Facultad de Ciencias Químicas, por la valiosa colaboración en la realización de esta tesis.

A nuestra directora, la Dra. Lourdes Jerves, por su vital apoyo del que nos honró sin importar las circunstancias en todo el tiempo que pasamos bajo su siempre generosa tutela.

A la Dra. Carmen Lucia López, por su voluntariosa colaboración.

A la Dra. Silvana Donoso, decana de la Facultad de Ciencias Químicas por su calidez humana y profesionalismo de enorme trascendencia en el florecimiento de este trabajo.

Al personal docente y administrativo de la Facultad de Ciencias Químicas por su calidad académica y trato humano que permitieron nuestro mejor desempeño.

INTRODUCCIÓN



Las bacterias coliformes son un grupo de bacilos Gram negativos, cuyo representante más importante desde el punto de vista sanitario es *Escherichia coli*, patógeno causante de diversas enfermedades infecciosas en el ser humano como procesos intestinales y extra intestinales.

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) es una bacteria Gram positiva que se encuentra en la piel y la cavidad nasofaríngea del 20% al 40% de las personas sanas; puede ser el causante de una gran variedad de enfermedades, entre las que podemos mencionar: cutáneas como forúnculos, respiratorias como neumonía, cerebrales como meningitis, cardíacas como endocarditis y provocar trastornos múltiples como en el síndrome de shock tóxico (SST). (1)

Tanto las bacterias coliformes como *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) son potencialmente patógenos para el ser humano; motivo por el cual, se realizó la presente investigación para determinar la presencia de estos microorganismos en los teclados del centro de documentación regional Juan Bautista Vásquez (CDRJBV) de la Universidad de Cuenca; ya que no disponía de un análisis de las posibles bacterias patógenas que pudieran transmitirse a los usuarios y al personal, debido al uso continuo de los teclados de acceso público y los pertenecientes al personal que labore en el mismo, con el riesgo potencial de causar enfermedades y en el peor de los escenarios una epidemia que podría afectar el rendimiento laboral y académico en la Institución Universitaria, con el fin de verificar la hipótesis planteada de la presencia en los teclados de los microorganismos mencionados.

De igual manera otro de los objetivos fue realizar un ensayo de valoración de desinfección por tiempo de contacto y dosificación del desinfectante utilizado en el CDRJBV.



CAPÍTULO 1

1. MARCO TEÓRICO

1.1. BACTERIA

1.1.1 DEFINICIÓN

En la naturaleza existen dos clases de células, las procariotas y las eucariotas; las primeras son evolutivamente más antiguas, solo se hallan como organismos unicelulares y constituyen las bacterias. El resto de organismos vivos unicelulares y pluricelulares está formado por células eucariotas. (2)

1.1.2. MORFOLOGÍA

Las bacterias poseen un tamaño medio que oscila entre 2 y 10 μm . Su citoplasma está repleto de ribosomas; el material genético, constituido por ácido desoxirribonucleico (DNA), forma un conglomerado compacto (nucleoide) carente de membrana nuclear. La membrana citoplasmática está rodeada externamente por una pared dura y elástica, de peptidoglicano (glicopéptido, mureina), que confiere la forma a la célula. (2)

1.1.3. CLASIFICACIÓN

Por su morfología, las bacterias se clasifican en cocos, cuando tienen forma redondeada, y bacilos, cuando muestran su morfología alargada; según la estructura de su pared, pueden ser grampositivas, cuando solo poseen peptidoglicano; o gramnegativas, si tiene adosada por fuera del peptidoglicano una membrana rica en lipopolisacáridos, algunas bacterias pueden tener un cápsula rodeando la pared; también pueden poseer flagelos que facilitan su movilidad, y fimbrias (Pilis), que desarrollan varias funciones, principalmente de adherencia.

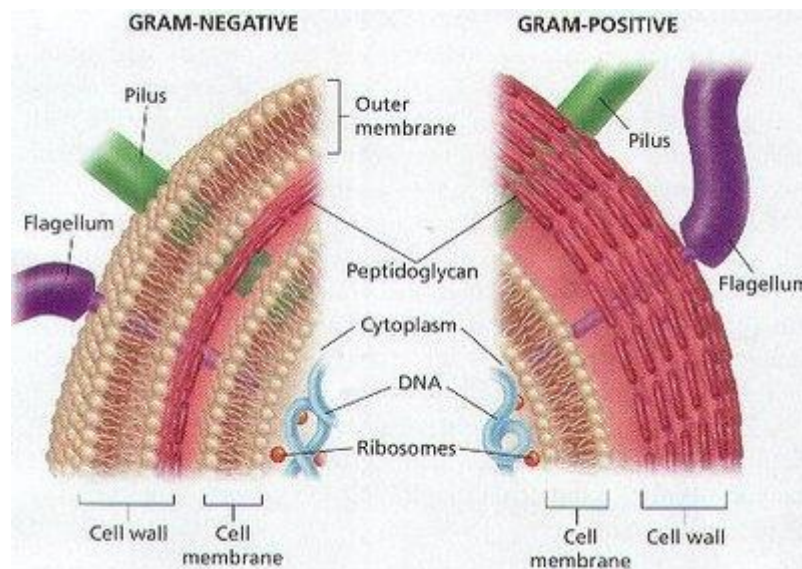


Fig. 1. Estructura de bacteria grampositiva y gramnegativa (Fuente: <http://cienciatic.blogspot.com>)

1.2. GÉNERO ESTAFILOCOCO

1.2.1. CARACTERÍSTICAS

Pertenece a la familia de las micrococáceas, como agentes patógenos que son capaces de invadir la mayor parte de los tejidos y órganos del cuerpo humano. Son microorganismos inmóviles no esporulados, figuran entre los microorganismos no esporulados más resistentes. Estos microorganismos toleran la desecación, el calor, las altas concentraciones salinas (7.5% NaCl) e incluso algunos antisépticos. Son microorganismos aerobios o anaerobios facultativos catalasa positiva. (1) (3)

La mayoría de las especies producen catalasa, una enzima que permite desdoblar el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en H_2O y oxígeno libre. Esta característica es muy importante para diferenciar el género *Staphylococcus* (catalasa positivo) de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus*, que no producen esta enzima (Catalasa negativo) (4)



Estos microorganismos crecen bien en diferentes medios de cultivo con una amplia variación térmica, fermentan azúcares con producción de ácido láctico pero no de gas.

TABLA 1: Características principales del género *Staphylococcus*.

| | |
|---|---|
| Orden: <i>Bacillales</i> Familia: <i>Staphylococcaceae</i> Género: <i>Staphylococcus</i> | |
| Bacteria esféricas (cocos) | Inmóviles |
| Gram positivas | No esporulados |
| Agrupación típica en racimo | Crecimiento rápido (18-24h)* |
| Catalasa positivos | Resistencia a condiciones ambientales adversas. |
| Anaerobios facultativos | |
| *Las variantes de colonias pequeñas de <i>S. aureus</i> requieren 48 h para desarrollarse en cultivo | |
| Fuente: (4) | |

1.2.2. MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA

Se trata de cocos Gram positivos que poseen tendencia a agruparse en racimos; tienen una forma esférica y un diámetro de alrededor de una micra. (5)

1.2.3. MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA

Para apreciarla debemos contar con un aislamiento de la cepa a estudiar en una placa de Petri. El aislamiento nos permitirá observar las características de las colonias. En medios no selectivos, *S. aureus* presenta colonias de 1 a 3 mm de diámetro, lisas, levemente elevadas, de bordes enteros, levemente convexas y generalmente pigmentadas con un color que puede ir desde crema al amarillo. La producción de pigmento se ve favorecida si se incuban por 24 a 48 horas adicionales a temperatura ambiente. Cuando crecen en agar sangre ovina se puede observar una zona de β -hemólisis alrededor de las colonias. (5)



1.2.4. METABOLISMO

En cuanto a su forma de obtener energía es tanto a través de la fermentación como de la respiración. En relación a los requerimientos de cultivo, son no exigentes desde el punto de vista nutricional, creciendo en medios pobres y simples, son aerobios-anaerobios facultativos. (5)

1.2.5. RESISTENCIA A AGENTES FÍSICOS Y QUÍMICOS

Son muy resistentes a las condiciones ambientales normales. Son capaces de sobrevivir hasta tres meses en un cultivo a temperatura ambiente. En cuanto a los agentes químicos, son sensibles a la mayoría de los desinfectantes y antisépticos, que los matan en pocos minutos. (5)

1.3. CLASIFICACIÓN DE *ESTAFILOCOCOS* SEGÚN LA PRUEBA DE LA COAGULASA

1.3.1. *ESTAFILOCOCOS* COAGULASA NEGATIVA

Son mucho menos virulentos que *S. aureus* son habitantes de microbiota de piel y mucosas del ser humano. Sólo *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus saprophyticus* son patógenos humanos constantes. *Staphylococcus lugdunensis* es patógeno oportunista (pacientes con enfermedades de base o terapia inmunosupresora).



TABLA 2: Epidemiología de los *Estafilococos* coagulasa negativos.

| Microorganismo | Hábitat (reservorio) | Modo de transmisión |
|---|--|--|
| <i>S. epidermidis</i> | Flora normal de la piel y las mucosas humanas; ampliamente distribuido, a menudo en grandes cantidades, sobre toda la superficie corporal. | Diseminación de la cepa endógena a un sitio estéril, casi siempre de un resultado del implante de dispositivos médicos. |
| <i>S. haemolyticus</i> y <i>S. lugdunensis</i> | Flora humana normal, de forma similar a <i>S. epidermidis</i> pero en menor cantidad | Probablemente igual que para <i>S. epidermidis</i> . |
| <i>S. saprophyticus</i> | Flora normal de la piel y la mucosa del aparato genitourinario de los seres humanos | Introducción de la flora endógena en el aparato urinario estéril, en particular en mujeres jóvenes sexualmente activas. La infección se adquiere en la comunidad, el microorganismo no se considera agente de infecciones nosocomiales |

Fuente: (6)

1.3.2. ESTAFILOCOCOS COAGULASA POSITIVA

En esta clasificación el único con esta denominación es el *S. aureus*.

1.3.2.1. *Staphylococcus aureus*.

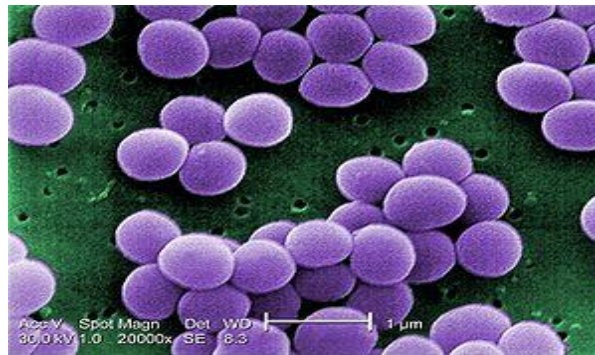


Fig. 2. Morfología de *Staphylococcus aureus* (Fuente: Mashpedia)



Staphylo: describe la disposición en racimo de las células y **coccus:** indica que tiene forma de esfera el epíteto específico. **aureus:** significa dorado en latín el color de muchas colonias de esta bacteria. (7)

1.3.2.2. MORFOLOGÍA DE LAS COLONIAS

La morfología colonial es una característica muy útil que ayuda a diferenciar inicialmente la especie de *Staphylococcus aureus* de otras especies de estafilococos.

En medios no selectivos, la mayoría de las especies crecen después de 18-24 horas de incubación formando colonias de 1 a 3 mm de diámetro. Tras las 24 horas de incubación, *Staphylococcus aureus* crece formando colonias lisas, elevadas, brillantes y de bordes enteros. Típicamente, las colonias presentan una consistencia cremosa, con una coloración amarillenta o dorada, debido a la producción de un pigmento carotenoide; casi todas las cepas tienen un halo de β hemólisis o hemólisis completa alrededor de la colonia, cuando crece en medios de cultivo con sangre.

La principal característica que diferencia a *Staphylococcus aureus* de las demás especies de estafilococos es la producción del enzima coagulasa, que permite a la bacteria coagular el plasma. (4)



Fig. 3. Colonias pigmentadas y β -hemolíticas de *Staphylococcus aureus* en un medio de agar sangre

1.3.3. ESTRUCTURA

1.3.3.1. PARED CELULAR

El *Staphylococcus aureus* posee un antígeno específico de especie, el polisacárido A, unido al mucopéptido y, por lo tanto presente en la pared celular.

En dicha pared se encuentra la proteína A, que se une a la región Fc de la IgG, lo que le da actividad antifagocítica. El peptidoglucano de la pared actúa como endotoxina, atrae leucocitos PMN y activa la lisozima, podría hidrolizar el complemento. (1). Los ácidos teicoicos favorecen la adhesión, al igual que la capa de limo o *slime*, constituida por hidratos de carbono y proteínas extracelulares. Esta capa facilita la adhesión e inhibe la quimiotaxis y la fagocitosis. Entre las enzimas, una de las más conocidas es la coagulasa o factor *clumping*. Esta proteína representa un importante factor de virulencia. La coagulasa puede unirse al fibrinógeno y convertirlo en fibrina insoluble la cual tiende a formar depósitos donde los estafilococos pueden agregarse (semejando a las plaquetas) y formar grupos.

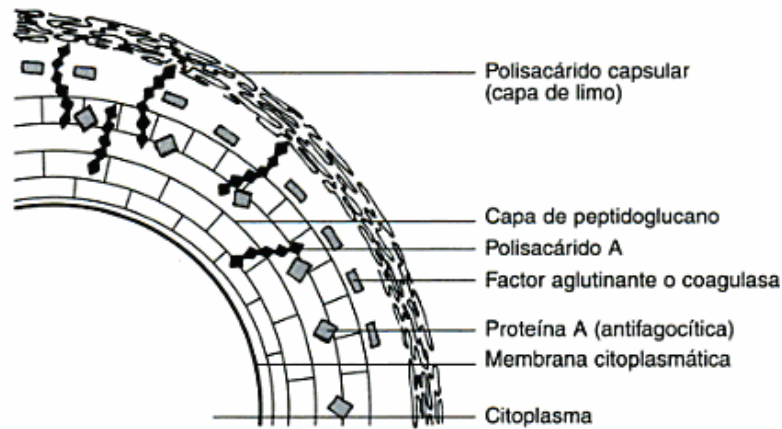


Fig. 4. Estructura de la pared de los microorganismos del género *Staphylococcus*.
Fuente: (1)

1.3.3.2. CARACTERÍSTICAS PATÓGENAS

1.3.3.3. TOXINAS

La hemolisina estafilocócica o toxina α , β , γ y δ se diferencian por el tipo de eritrocito que lisan. Estas toxinas actúan también sobre otras células: La toxina α daña el músculo liso, las células de la piel, los macrófagos y las plaquetas. La toxina β o esfingomielinasa C es especialmente tóxica para células con esfingomielina. La toxina γ parece actuar sobre los fosfolípidos de la membrana. La toxina δ es tóxica para muchas células polimorfonucleares, macrófagos, linfocitos y plaquetas. (1) (8).

1.3.3.4. EXFOLIATINA O TOXINA EPIDERMOLÍTICA (EXOTOXINA)

Hay dos tipos A y B; son codificadas por un plásmido y producen una lesión cutánea conocida como dermatitis aguada exfoliativa.



1.3.3.5. TOXINA DEL SÍNDROME DEL SHOCK TÓXICO (TSSS-I) O TOXINA PIROGÉNICA

Se trata de una toxina semejante a la que produce los estreptococos y se la considera un superantígeno. Puede causar una erupción escarlatiniforme. No se encuentra en todos los casos de shock séptico estafilocócico (SSS).

1.3.3.6. LOCALIZACIÓN, TRANSMISIÓN Y FUENTE DE INFECCIÓN

S. aureus se encuentra en la nasofaringe del 20 al 40% de las personas. También hay especies en la piel y la ropa, y raras veces en la vagina, el recto y región perineal. En la boca la cantidad de microorganismos es escasa. *S. aureus* coloniza con frecuencia los recién nacidos, especialmente en el muñón del cordón umbilical. (1)

Expresado longitudinalmente, cerca del 30% de la población puede ser portador permanente, el 50% portador intermitente y el 20% no es colonizado. Algunas poblaciones pueden tener una tasa de colonización mayor como el personal de salud, los pacientes en hemodiálisis, diabéticos, adictos a drogas intravenosas, etc. A pesar que *S. aureus* posee numerosos factores de virulencia, puede convivir con el huésped humano formando parte de su flora normal sin causar ningún daño. Existen ocasiones en que este equilibrio se puede romper. Desde las narinas, los portadores pueden transferir bacterias a diferentes sectores de la piel, aunque habitualmente existe resistencia a la colonización de la piel intacta. Sin embargo, un traumatismo (muchas veces desapercibido) puede dar una puerta de entrada al microorganismo. En caso de infección, por tanto, *S. aureus* puede ser muchas veces de origen endógeno. (5)

La colonización puede asentarse sobre la mucosa nasal, orofaringe, epidermis íntegra, úlceras crónicas, heridas en fase de cicatrización o en la uretra de portadores de sonda. Además, *S. aureus* interacciona con múltiples receptores del huésped a través de diversos componentes de superficie. Presenta asimismo una elevada capacidad de adherencia a diversos sustratos in vitro, por mecanismos que se activan también sobre múltiples materiales inanimados como el polimetacrilato, el teflón o la mayoría de materiales protésicos. (9)



1.3.4. ENFERMEDADES CAUSADAS FRECUENTEMENTE POR *S. AUREUS*

| | |
|--|--|
| INFECCIONES DE LA PIEL Y PARTES BLANDAS | <ul style="list-style-type: none">• Foliculitis• Furúnculo, Antráx• Celulitis• Impétigo• Mastitis• Infecciones de incisiones quirúrgicas• Hidradenitis supurativa. |
| INFECCIONES MUSCULO ESQUELETICAS | <ul style="list-style-type: none">• Artritis séptica• Osteomielitis• Piomiositis |
| INFECCIONES DE VIAS RESPIRATORIAS | <ul style="list-style-type: none">• Neumonía nosocomial• Émbolos pulmonares sépticos• Neumonía posvídica• Empiema |
| BACTEREMIA Y SUS COMPLICACIONES | <ul style="list-style-type: none">• Sepsis, Shock Séptico• Focos metastásicos de infección• Endocarditis infecciosa |
| ENDOCARDITIS INFECCIOSAS | <ul style="list-style-type: none">• Por drogas inyectables• En válvulas originales y protésicas• Nosocomial |
| INFECCIONES EN DISPOSITIVOS | <ul style="list-style-type: none">• Como catéteres intravasculares, prótesis, etc. |

(9)



1.3.5. EPIDEMIOLOGÍA

Los estafilococos que se asocian con infecciones humanas son colonizadores de diferentes superficies cutáneas y mucosas. Dado que el estado de portadores es común en la población humana, las infecciones se adquieren con frecuencia cuando la cepa que coloniza accede a un sitio normalmente estéril como resultado de un traumatismo o una abrasión de la piel o la mucosa.

Los estafilococos también se transmiten entre personas. Después de la transmisión los microorganismos pueden establecerse como parte de la flora normal del receptor y después introducirse en sitios estériles por vía de traumatismos o procedimientos invasivos.

El microorganismo también puede ser introducido en forma directa en sitios normalmente estériles por un cirujano o una enfermera durante una operación. La diseminación interpersonal de estafilococos, en particular de los que han adquirido resistencia a los antimicrobianos, tiene mayor frecuencia en los hospitales y origina grandes problemas en el control de las infecciones. Sin embargo, en los últimos tiempos también se han hallado infecciones graves por *S. aureus* en el ámbito de la comunidad. (6)

La existencia de estafilococos resistentes a antibióticos (como la metilina por ejemplo) pone en alerta a la comunidad médica, siendo cada vez de mayor frecuencia infecciones por esa clase de microorganismos en la comunidad, en especial de grupos de personas que generalmente no se encuentra dentro del perfil de riesgo para esta clase de infecciones, es decir personas que no poseen enfermedades inmunitarias, personas hospitalizadas, u hospitalizadas; sino habitantes comúnmente ambulatorios. En Latinoamérica, en especial en Ecuador la prevalencia exacta de infecciones por estafilococos es desconocida pero se pueden citar informes procedentes de Brasil o Argentina, en las que se estima una prevalencia del 60% al 80% de la población ambulatoria, esto relacionado con infecciones de la piel. (10)



1.4. COLIFORMES

1.4.1. DEFINICIÓN

Son bacilos Gram negativos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos con una temperatura óptima de 30-37°C. Se encuentran en los intestinos, estiércol, suelo aguas contaminadas y superficies. Fermentan la lactosa a 37°C en 48 horas produciendo ácido láctico y otros ácidos orgánicos, anhídrido carbónico e hidrógeno. (11)

1.4.2. BACTERIUM

Singular de bacteria y *coli*, del griego kolon, intestino. Es decir bacteria del intestino. La mayoría de los coliformes pueden encontrarse en la flora normal del tracto digestivo del hombre o animales, por lo cual son expulsados especialmente en las heces, como es *Escherichia coli*. Por su presencia constante en la materia fecal, el termino coliformes es más ampliamente utilizado en la microbiología de alimentos como indicador de prácticas higiénicas inadecuadas. (12)

1.4.3. COLIFORME

Significa con forma de coli, refiriéndose a la bacteria, la *Escherichia coli*, descubierta por el bacteriólogo alemán Theodor Von Escherich en 1860. (13)

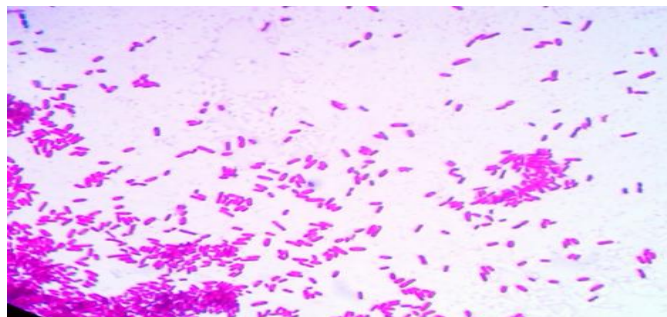


Fig. 5. Morfología de bacilos Gram Negativos



1.4.4. COLIFORMES TOTALES Y COLIFORMES FECALES

1.4.4.1. COLIFORMES TOTALES

No todos los coliformes son de origen fecal, se distingue, por lo tanto, los coliformes totales que comprende la totalidad del grupo y los coliformes fecales aquellos de origen intestinal. Se encuentran comúnmente en el medio ambiente (por ejemplo, en el suelo y las plantas) y generalmente no causan problemas. (14)

1.4.4.2. COLIFORME FECAL

Las bacterias coliformes fecales forman parte del total del grupo coliforme. Son definidas como bacilos Gram-negativos, no esporulados que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas. La mayor especie en el grupo de coliforme fecal es *Escherichia coli* (*E. coli*). Su presencia es un indicativo de contaminación de origen fecal y tiene un gran potencial de causar enfermedades. (14)

TABLA 3: Clasificación científica de coliformes.

| CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA. | |
|---------------------------|----------------------|
| Reino: | Bacteria |
| Filo: | Proteobacteria |
| Clase: | Gamma Proteobacteria |
| Orden: | Enterobacteriales |
| Familia: | Enterobacteriaceae |
| Fuente: (13) | |

TABLA 4: Géneros pertenecientes a *Coliformes*

| |
|-----------------------|
| • <i>Escherichia</i> |
| • <i>Klebsiella</i> |
| • <i>Enterobacter</i> |
| • <i>Citrobacter</i> |
| Fuente: (13) |



Se los llama coliformes aquellas bacterias que cumplen los siguientes requisitos bioquímicos aerobias o anaerobias facultativas, Gram negativas, no esporógenas y fermentan la lactosa. (15)

La interpretación de la presencia y abundancia de coliformes en alimentos y en superficies regulares e irregulares generalmente es considerada como un triple significado en microbiología sanitaria.

- a) Como indicador de contaminación fecal o de malas prácticas de trabajo en el manejo de los alimentos o en el momento de la sanitización de superficies.
- b) Como causa de alteración de los alimentos.
- c) Como agentes etiológicos de enteritis. (16)

1.5. ENFERMEDADES CAUSADAS POR BACTERIAS COLIFORMES

En este grupo se encuentran una gran variedad de bacterias algunas de ellas de interés clínico ya sea por causar enfermedades de carácter oportunista o por ser estrictamente patógenas para el ser humano. De acuerdo al sitio donde causan la infección y el tipo de bacteria que mayoritariamente la produce se pueden clasificar de la siguiente manera. (17)



TABLA 5: Enfermedades producidas por coliformes.

| Sitio de origen de la infección | Bacterias gramnegativas más frecuentes |
|---------------------------------|---|
| Vías urinarias | <i>Escherichia Coli, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Proteus</i> |
| Tubo digestivo | <i>Escherichia Coli, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Salmonella</i> |
| Vías biliares | <i>Escherichia Coli, Klebsiella, Enterobacter, Serratia</i> |
| Aparato genital femenino | <i>Escherichia Coli</i> |
| Aparato circulatorio | <i>Serratia, Erwinia, Enterobacter cloacae</i> |
| Piel y tejidos blandos | <i>Serratia</i> |
| Aparato respiratorio | <i>Klebsiella, Enterobacter, Serratia</i> |
| Fuente: (17) | |

Escherichia coli, el microorganismo más prevalente de este grupo, la presencia de *E coli* sería un indicativo de contaminación de origen fecal que pudiera ser procedente de una mala higiene de parte de los usuarios de teclados de computadoras, en el Ecuador se han realizado estudios sobre *E coli*, demostrando una alta prevalencia, en especial de un subgrupo de *E. coli* conocida como “*Enteroinvasiva*” que es una de las principales causantes de disentería en la población humana descrita una prevalencia de 3.2 casos por cada 100 personas. (3)

1.6. *Escherichia coli*

Su nicho ecológico natural es el intestino delgado y grueso, forma parte de la flora nativa intestinal y se encuentra en calidad de saprobio sin causar daño. Por el contrario, muchas cepas de *E. coli* producen sustancias que son útiles al hospedero, como son las colicinas, que tiene efecto inhibitorio sobre otras cepas potencialmente patógenas por lo que la colonización en el intestino es benéfica para el hospedero. (18)

E coli es un bacilo Gram negativo, con una sola cadena espiral de ADN, móvil, aerobio y anaerobio facultativo con flagelos peritricos. La mayoría forma fimbrias y *pilis*, muchas



cepas producen una pequeña microcápsula y muy pocas elaboran macrocápsulas, y no fabrican esporas, en las pruebas bioquímicas es positiva al Indol, descarboxilasa de lisina, fermentación del manitol y gas a partir de la glucosa; además es lactosa positivo en el 90% de las cepas con citrato negativo. Tiene información genética en los plásmidos, que son responsables por la producción de toxinas y la resistencia a los antimicrobianos. El genoma de *Escherichia coli* contiene un total de 5000 genes. (18)

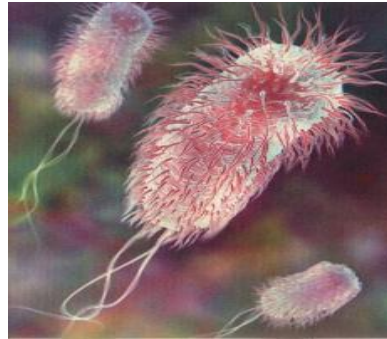


Fig. 6. Morfología de *Escherichia coli*. (Fuente: tuespaciodyelmio.com)

1.7. *Klebsiella*

El género *Klebsiella* está constituido por *K. pneumoniae* (el patógeno principal), *K. oxytoca* y *K. granulomatis*. *K. ozaenae* y *K. rhinoscleromatis* subespecies de *K. pneumoniae*, fermentadoras de glucosa, que se asocian a enfermedades particulares (el rinoscleroma y la rinitis atrófica crónica respectivamente). Fermentan la lactosa, la mayoría produce colonias sumamente mucoides en placas debido a la producción de una cápsula de polisacárido abundante y todas son inmóviles. Son indol-negativas y pueden crecer en KCN y utilizar citrato como única fuente de carbono. Con excepción de la endotoxina, en *Klebsiella* no se ha hallado otro factor de virulencia constante. *K. pneumoniae* forma parte de la flora habitual intestinal y de la cavidad oral. Es capaz de causar infecciones del tracto urinario (ITU) y neumonía en personas por lo demás sanas, aunque casi todas las infecciones por este microorganismo se adquieren en el hospital u ocurren en pacientes debilitados por enfermedades subyacentes. (19)



1.8. *Enterobacter*

Hasta la década de 1960 estos gérmenes estaban agrupados en la clasificación de *Klebsiella-Aerobacter*. A diferencia de *Klebsiella*, los *Enterobacter* son móviles y su cápsula tiende a ser menos notable. Las cepas de *Enterobacter* suelen colonizar a los pacientes hospitalizados, en particular a los tratados con antibióticos, y han sido asociados con infecciones de quemaduras, de heridas, de las vías respiratorias y del tracto urinario. (19)

1.9. *Citrobacter*

Los miembros del género *Citrobacter* se denominan así por su capacidad para usar citrato como su única fuente de carbono. Se diferencian por su capacidad para convertir el triptófano en indol, fermentar la lactosa y utilizar malonato. *C. freundii* produce H₂S de ahí que pueda confundirse con *Salmonella*. El tracto urinario es el lugar de origen más frecuente de los cultivos de *Citrobacter*, a menudo asociado a un catéter insertado. Estas bacterias también pueden cultivarse a partir de las vías respiratorias, un hallazgo que representa con más frecuencia colonización que infección sintomática. Además, las cepas de *Citrobacter* están implicadas en infecciones intraabdominales, infecciones de tejidos blandos y osteomielitis. *C. diversus* ha provocado frecuentes brotes nosocomiales de meningitis neonatal. Las cepas de *C. freundii* tienen genes ampC inducibles que codifican la resistencia a la ampicilina y cefalosporinas de primera generación. (19)

1.10. DESCRIPCIÓN DEL LUGAR DE INVESTIGACIÓN

El lugar de investigación fue el Centro de Documentación Juan Bautista Vásquez (CDJBV) el cual es un edificio de tres pisos, en cada piso hay computadoras para el acceso al público y estudiantes de la Universidad de Cuenca del campo central.

Los microorganismos se encuentran en el aire, en el polvo, estas bacterias se dispersan en el aire en gotas de saliva y moco producidas al momento de toser estornudar, hablar o reír. Otros tipos de bacterias tales como los de origen fecal son arrastrados por el mal



hábito de las personas de no lavarse las manos después de cualquier actividad. Todos estos tipos de microorganismos se pueden encontrar en los teclados de las computadoras y la mayoría de ellos son los resultados de la contaminación humana.

La supervivencia de estos microorganismos en los teclados van a depender principalmente de las condiciones ambientales de donde se coloque al teclado y de los nutrientes para las bacterias que se transfieran al teclado, pudiendo ser derrames de comida o bebidas que aumentaran aún más su supervivencia. (20)

1.10.1. TECLADO

Los teclados de computadoras y sus cubiertas tienen la capacidad de albergar bacterias potencialmente dañinas por periodos prolongados de tiempo. (21)

El uso diario de las computadoras para consultar, realizar trabajos, hace que cada día los teclados del CDJBV sea utilizado frecuentemente por los estudiantes y personal que labora en esta Institución.

Derrames de bebidas, comer en los escritorios, no lavarse las manos antes y después de usar los teclados de las computadoras hace que la proliferación de microorganismos aumente, tales bacterias como *E. coli*, *S. aureus* y una variedad de *coliformes*, responsables de infecciones gastrointestinales y respiratorias, que incluso pueden poner en riesgo la vida del usuario. (22)



Fig. 7. Teclados que usan diariamente los estudiantes el CDJBV



CAPÍTULO 2

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

2.1.1. Tipo de investigación: Descriptivo-prospectivo

2.1.2. Planteamiento del diseño: No Experimental.

2.2. METODOLOGÍA DE TRABAJO

El análisis se realizó durante los meses de Abril a Junio del año 2013 en el laboratorio de microbiología de la Universidad de Cuenca, conforme el plan de actividades. Detallado en el anexo 1.

2.3. POBLACIÓN DE ESTUDIO

La investigación se realizó en los teclados de las computadoras del Centro de Documentación Regional Juan Bautista Vásquez, los cuales están al servicio del público en general y estudiantes de la Universidad de Cuenca en el campus central.

Los teclados utilizados dentro de las instalaciones del centro de documentación son en general de plástico resistente, con las especificaciones de un teclado QWERTY de 105 teclas en idioma español. El teclado es uno de los periféricos más utilizados y más vulnerables a la suciedad, por la posición en la que se encuentra. Por este motivo es fundamental la buena limpieza de los mismos.



2.4. MUESTREO

El centro de documentación Regional Juan Bautista Vásquez tenía a su disposición, al momento del desarrollo de la investigación; 72 equipos de computación con sus respectivos teclados, los cuales se dividen en dos grupos; los que están al servicio del público en general y aquellos que pertenecen al personal que labora en la biblioteca, se tomó muestras de los grupos antes indicados por pisos, es decir, se comenzó por la planta baja hacia el tercer piso, hasta completar las 61 muestras propuestas para el análisis.

TABLA 6: Cuadro del número de computadoras por piso.

| PISO | Número de Equipos (TECLADOS) |
|---------------------|-------------------------------------|
| Planta Baja | 48 |
| Primer Piso | 14 |
| Segundo Piso | 8 |
| Tercer Piso | 2 |
| TOTAL | 72 |

Fuente: Centro de Documentación Regional Juan Bautista Vásquez.

La recolección de las muestras se realizó de manera aleatoria con una frecuencia de 2 veces por semana, durante 2 meses. Se analizó un total de 61 muestras sembrando cada una de ellas en agar sangre, agar manitol y agar EMB.



TABLA 7: Cronograma de trabajo para la determinación de *Staphylococcus aureus* y coliformes.

| Muestra | Total de análisis | Semanas |
|--|--------------------------|----------------|
| Planta baja | 7 | I |
| | 7 | |
| Primer Piso | 7 | II |
| | 7 | |
| Segundo Piso | 7 | III |
| | 7 | |
| Tercer Piso | 1 | IV |
| | 1 | |
| Recepción | 2 | IV |
| | 2 | |
| Dirección, Unidad de procesos técnicos, Unidad tecnológica. | 4 | V |
| | 4 | |
| Sala de uso múltiple. | 2 | VI |
| | 3 | VI |
| Total | 61 | |

Fuente: Centro de Documentación Regional Juan Bautista Vásquez.



2.5. TAMAÑO DE LA MUESTRA

El tamaño de la muestra se calculó mediante fórmula estadística:

$$n = \frac{N}{e^2(N-1)+1}$$

Dónde:

- N: tamaño de población
- e: precisión o error admisible
- n= tamaño de la muestra

$$n = \frac{72}{0,05^2(72 - 1) + 1} = 61$$

A cada muestra se realizó una determinación de *Staphylococcus aureus* y *coliformes* usando métodos de laboratorio. (Anexo 1)

2.6. TOMA DE MUESTRA

La toma de la muestra se llevó a cabo con dos hisopos estériles para el mismo teclado estos fueron embebidos en suero fisiológico estéril y se procedió a realizar el hisopado de todas las superficies de los teclados de las computadoras del Centro de Documentación Regional Juan Bautista Vásquez, el primer hisopo fue depositado en el tubo con suero fisiológico estéril y el segundo hisopo fue depositado en caldo de tripticasa soya estéril, con estas suspensiones se investigaron *Staphylococcus aureus* y *coliformes*.

Una vez tomadas las muestras, se las transportó al laboratorio de microbiología en un cooler para su respectivo proceso (Anexo 2).



2.6.1. SOLUCIÓN SALINA ESTÉRIL

Se colocó 3 mL de solución salina en tubos pequeños con tapa rosca, y se esterilizó en autoclave a una presión de 15 libras, a temperatura de 121°C durante 15 minutos. (Anexo 3)

2.6.2. CALDO TRIPTICASA SOYA

Se realizó los cálculos respectivos para la preparación del caldo de tripticasa soya, utilizando la fórmula especificada en el frasco; suspender 30 g del medio en un litro de agua purificada, calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Verter en los tubos requeridos y esterilizar en autoclave a 121°C por 15 min. (Anexo 4)

2.6.3. TÉCNICA PARA LA TOMA DE MUESTRA

Trabajar con 2 tubos pequeños, el uno con 3 mL de suero fisiológico estéril; el otro con 3mL de caldo tripticasa soya y 2 hisopos estériles.

Etiquetar cada tubo, introducir los 2 hisopos en el tubo con suero fisiológico con la finalidad de embeber los mismos, y exprimir la solución en exceso presionando contra la pared interior del tubo con un movimiento rotatorio. Sostener los 2 hisopos en un ángulo de 30° con respecto a la superficie a muestrear.

Frotar los hisopos lenta y completamente por toda la superficie del teclado de la computadora. Repetir esta operación tres veces sobre esta superficie, en tres direcciones distintas.

Regresar uno de los hisopos al interior del tubo con suero fisiológico y romper la parte superior del mismo. Cerrar el tubo y agitar vigorosamente por 10 segundos. El otro hisopo introducirlo al tubo con caldo tripticasa soya e incubarlo por 4h a 35-37° C.



Trasladar al laboratorio para procesarla. (23)

2.7. TÉCNICA PARA CULTIVAR *Staphylococcus aureus*

2.7.1. INOCULACIÓN

Una vez obtenido la muestra de los teclados de las computadoras, procedimos a la siembra de la muestra recolectada en solución salina estéril en medio de agar sangre de carnero al 5% y agar manitol. La siembra se realizó con un asa bacteriológica utilizando la técnica de agotamiento.

Luego rotulamos las cajas usando números distintos.

El segundo inóculo de la muestra se realizó con el hisopo embebido en caldo tripticosa soya incubado por 4 horas con el fin de enriquecer los microorganismos presentes luego se procedió de la misma forma que con la siembra en solución salina.

Las siembras se realizaron por triplicado.

2.7.2. INCUBACIÓN

Se incubó en la estufa durante 18-24 h a 35°C-37°C en condiciones de aerobiosis. (24)

2.7.3. INTERPRETACIÓN

Si no se desarrollan colonias después de 72 horas de incubación, el resultado es negativo y el ensayo se da por concluido. (24)



2.7.3.1. EN AGAR SANGRE

Si aparecen colonias redondas, lisas, convexas, blancas, a las 24 horas pueden desarrollar un pigmento amarillo y β hemólisis a las 48 horas se consideró presuntivo de *S. aureus*. (25) (24)



Fig. 8. β hemólisis en agar sangre

2.7.3.2. EN AGAR MANITOL

Este medio es específico para cultivo de *Staphylococcus aureus*, se observa la fermentación del manitol presente en el medio por cambio de pH y el color rosado normal se torna amarillo, mostrando colonias medianas, lisas, cremosas y brillantes. (25)

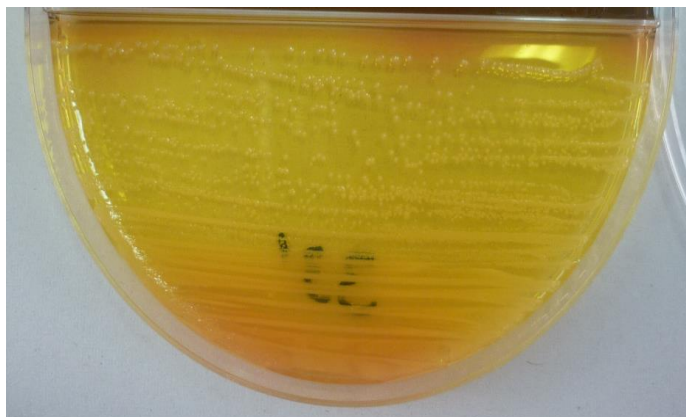


Fig. 9. Colonias *S. aureus* [Agar Manitol]



Se realizó tinción de Gram (cocos Gram positivo en racimo) (24)

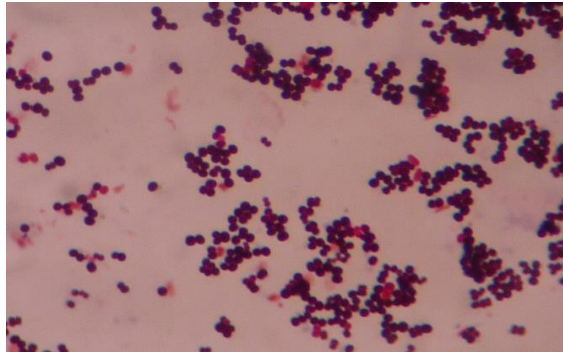


Fig. 10. Cocos Gram Positivos [Tinción Gram]

Para confirmar la presencia de *Staphylococcus aureus* se realizó la prueba de la catalasa, y la prueba de coagulasa. (24)

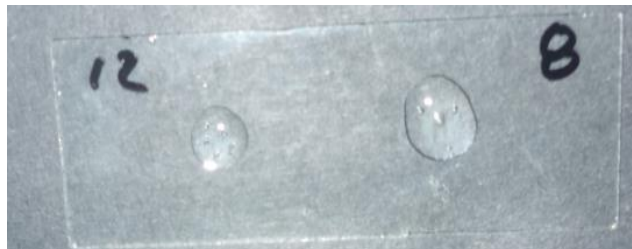


Fig. 11. Prueba de la catalasa [catalasa positiva]

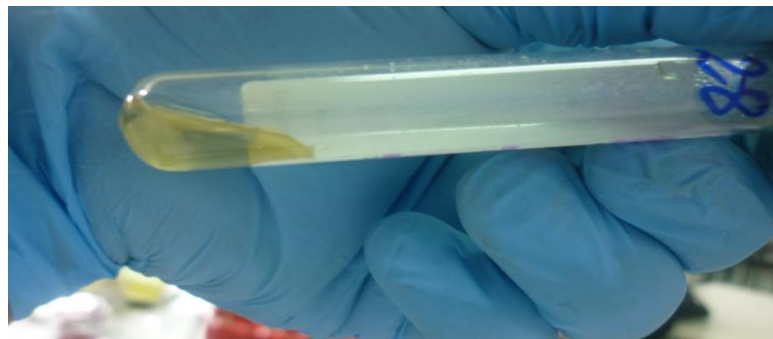


Fig. 12. Prueba de la coagulasa [coagulasa positiva]



2.8. TÉCNICA PARA CULTIVAR COLIFORMES

Una vez tomada la muestra con el hisopo se procedió a sembrar la muestra en las placas con Agar Sangre al 5% y Agar EMB.

2.8.1. INOCULACIÓN

Se colocó la placa de agar EMB en una superficie plana, se procedió a la siembra en estría utilizando un asa recta con la finalidad de obtener colonias aisladas y puras, tanto de la muestra recolectada en solución salina como de la incubada previamente en caldo tripticosa soya durante 4 horas. (26)

2.8.2. INCUBACIÓN

De 24 a 48 horas a 35-37 °C, en aerobiosis tanto para agar EMB como para Agar sangre. (26)

2.8.3. INTERPRETACIÓN

Los *coliformes* que utilizan la lactosa y/o sacarosa producen colonias lisas, circulares, convexas, con bordes diferenciados de color rosado y posible brillo metálico. (27)

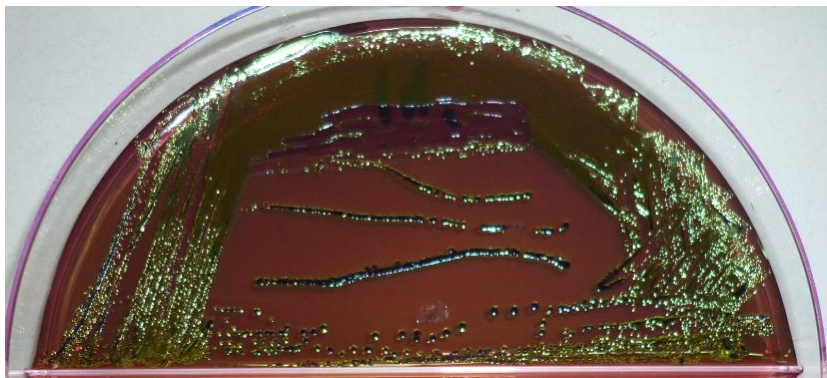


Fig. 13. Colonias con brillo metálico [Agar EMB]



2.8.4. PRUEBAS CONFIRMATORIAS PARA COLIFORMES

Con una colonia aislada se procedió a realizar las siguientes pruebas que nos llevaron a definir la presencia de coliformes (*E. coli*).

- a) A las colonias más aisladas se realizó tinción de Gram para determinar la presencia de Bacilos Gram Negativos.

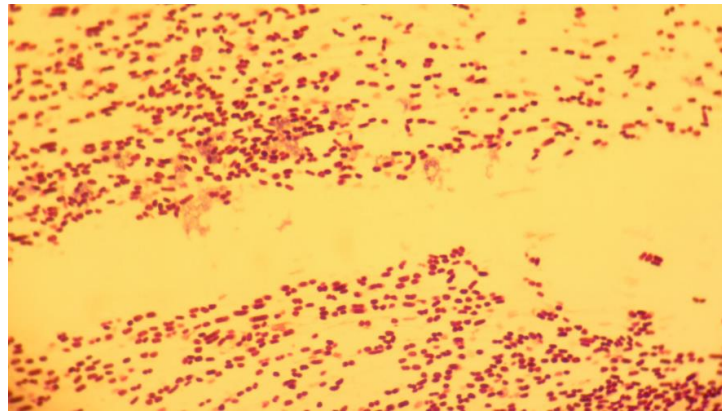
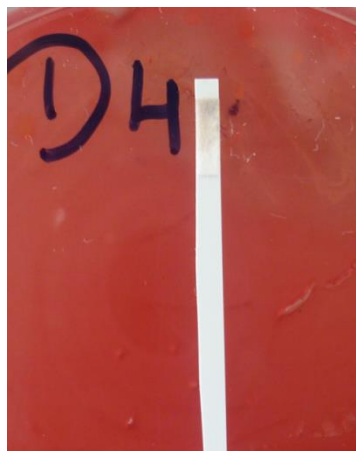


Fig. 14. Bacilos Gram Negativos [Tinción Gram]

- b) Una vez realizado la tinción de Gram y determinado la presencia de Bacilos Gram negativos se procedió a realizar la prueba de la oxidasa, que para seguir con la identificación de Coliformes esta prueba tiene que ser negativa.

A.



B.



Fig. 15. A: Prueba oxidasa negativa. B: Prueba de oxidasa positiva. [Agar Sangre]



c) Luego de realizar la prueba de oxidasa y confirmando que sea oxidasa negativo se procedió a realizar las pruebas bioquímicas necesarias para la determinación de coliformes. Se inocularon colonias aisladas del medio de agar sangre en los siguientes medios.

- Agar citrato (Siembra en estría)
- Agar urea(Siembra en estría)
- Agar LIA (Siembra en picadura y estría)
- Agar Kliger (Siembra en picadura y estría)
- Agar SIM (Siembra en picadura)
- Caldo RMVP

Se incubó en la estufa por 24 horas a 35-37 °C y se procedió a leer los resultados, y a realizar la prueba del Indol, y a realizar la prueba del rojo de metilo y Voges-Proskauer.

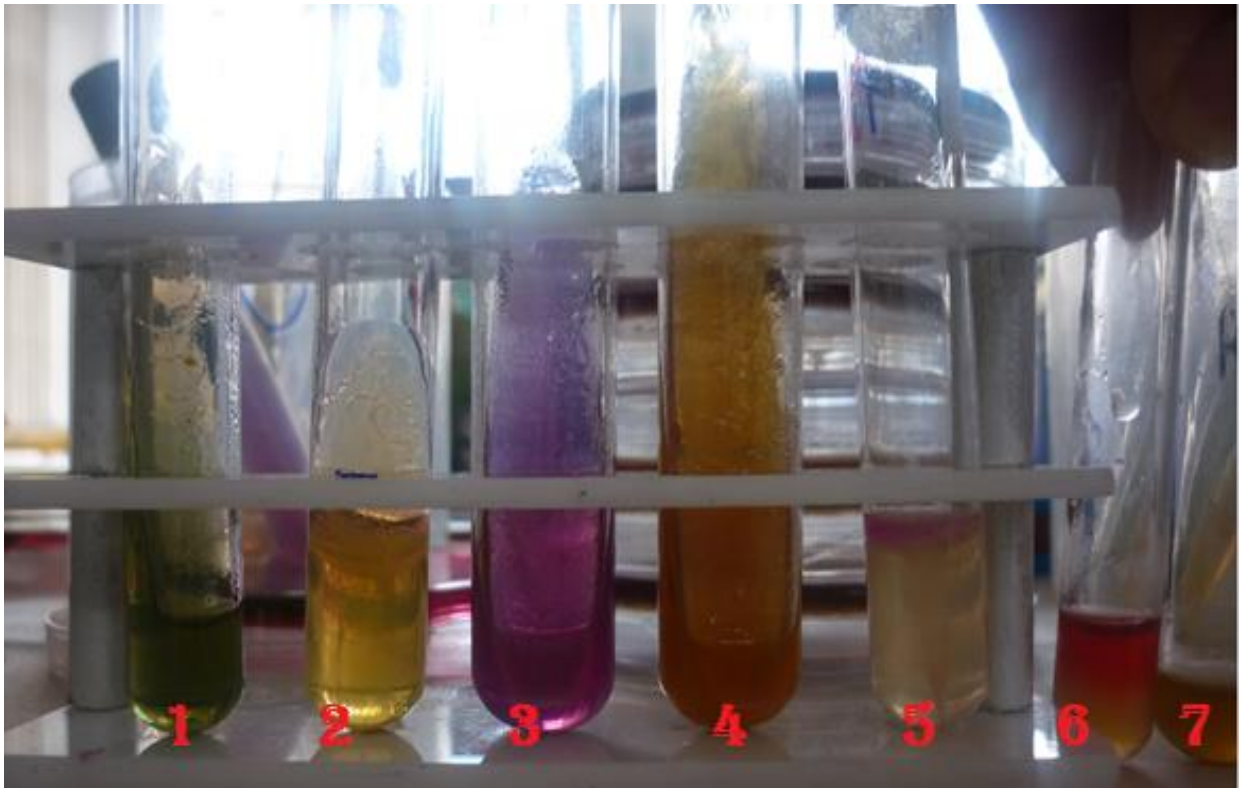


Fig. 16. Pruebas bioquímicas [*E. coli*]

TABLA 8: Resultados de Prueba Bioquímica de *Escherichia coli*

| # Tubo | Medio de cultivo | | Resultado | Interpretación | Microorganismo aislado |
|---------------------|------------------|------------------|-----------|--|-------------------------|
| 1 | CITRATO | | Negativo | No se consumió el citrato, el medio permanece verde. | <i>Escherichia coli</i> |
| 2 | UREA | | Negativo | No se evidencio la presencia de ureasa, amarillo. | |
| 3 | LIA | | k/k | K/K: Si hay descarboxilación de lisina, no se evidencio desaminación de la lisina. | |
| 4 | KLIGER | | A/A +/- | A/A: Fermentación de la lactosa y glucosa H ₂ S negativo Gas positivo | |
| 5 | SIM | H ₂ S | Negativo | No hay ennegrecimiento del medio | |
| | | Indol | Positivo | Halo rojo-fuscina después de añadir el reactivo de Kovacs o Elrich indica presencia de indol. | |
| | | Motilidad | Positivo | Turbidez difusa en la picadura. | |
| 6-7 | RMVP | Rojo de Metilo | Positivo | Coloración rojo brillante del medio indica producción de ácido con pH < 4.5 | |
| | | Voges-Proskauer. | Negativo | Color cobre del medio. | |
| Fuente: (27) | | | | | |



2.9. PRUEBAS BIOQUÍMICAS Y MEDIOS DE CULTIVO

2.9.1. SOLUCIÓN SALINA 0,9%

En el estudio se vio la necesidad de utilizar un medio estéril y de propiedades isotónicas, que pudiera proveer la capacidad de tomar las células bacterianas presentes en los teclados, el uso de solución salina al 0,9% proporciona una concentración adecuada para el propósito señalado ya que al ser un medio isotónico no modifica las estructuras bacterianas manteniéndolas en un estado permisible para su transporte y cultivo por brindar una presión osmótica estándar.

2.9.2. CALDO TRIPTICASA SOYA

Es un medio utilizado para cultivar una amplia variedad de microorganismos, pero el propósito de su utilización en el presente trabajo fue el de permitir un enriquecimiento que brinde las condiciones nutritivas necesarias para la recuperación de células bacterianas viables de microorganismos no exigentes que pudieran estar presentes en concentraciones bajas en los teclados de las computadoras.

En este medio las peptonas proveen la fuente de nitrógeno. La dextrosa provee la fuente de carbohidratos. El cloruro de sodio tiene su función en el balance osmótico. El fosfato dipotásico actúa como buffer. (28)

- Peptona de Caseína 17.0g
- Peptona de Soya 3.0g
- Cloruro de Sodio 5.0g
- Fosfato Dipotásico 2.5g
- pH 7.3 ± 0.2



Método:

Suspender 30 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Verter en los recipientes o tubos requeridos y esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos. (28)

2.9.3. AGAR SANGRE

Los componentes de este medio le dan un alto valor nutritivo para un gran número de microorganismos incluso los nutricionalmente exigentes, ya sea mohos, levaduras y en el caso específico del estudio bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas. La infusión de músculo de corazón y la peptona de caseína proporcionan la fuente de nitrógeno, carbono, aminoácidos y proteínas. El extracto de levadura provee vitaminas y aminoácidos esenciales, el agar es usado como agente solidificante. El agregado de sangre al medio de cultivo, en concentración final de 5-10 %, aporta nutrientes para el crecimiento bacteriano, y permite detectar hemólisis. Este medio está relativamente libre de azúcares reductores los cuales interfieren en las reacciones hemolíticas. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. (29)

- Infusión de Músculo de Corazón 2.0g
- Extracto de Levadura 5.0g
- Cloruro de Sodio 5.0 g
- Agar Bacteriológico 15.0g
- Digerido Pancreático de Caseína 13.0g
- pH 7.3 ± 0.2

Método:

Suspender 40 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión). Enfriar a una temperatura entre 45-50 °C y añadir, de preferencia,



sangre de carnero estéril y desfibrinada al 5%. Homogeneizar y vaciar en placas Petri estériles. (29)

2.9.4. AGAR MANITOL

En el estudio que se desarrolló era de gran importancia permitirse el uso de medios selectivos para la búsqueda específica de los microorganismos bacterianos que hipotéticamente se pensaba determinar previo al estudio, por este motivo se usó el agar manitol, el cual es un medio de alta concentración salina cuya característica facilita el aislamiento y diferenciación del género *Staphylococcus* que logra hidrolizar el manitol para acidular el medio y proporciona información visible de la presencia del mismo, logrando resistir las concentraciones elevadas de sal existentes. En este medio las peptonas y el extracto de carne proporcionan la fuente de carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales. El D. Manitol es el carbohidrato y la alta concentración de cloruro de sodio inhibe el crecimiento de flora acompañante. El rojo de fenol actúa como indicador de pH, el agar es adicionado como agente solidificante. (27)

- Digerido Péptico de Tejido Animal 5.0g
- Cloruro de Sodio 75.0g
- Digerido Pancreático de Caseína 5.0g
- D-Manitol 10.0g
- Extracto de Carne 1.0g
- Rojo de Fenol 0.025g
- Agar Bacteriológico 15.0g
- pH 7.4 ± 0.2

Método:

Suspender 111 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto, esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos. Dejar enfriar a una temperatura entre 45-50°C y vaciar en placas de Petri estériles. (27)



2.9.5. AGAR EMB

Las bacterias Coliformes al ser una familia muy variada requieren para su aislamiento e identificación el uso de medios selectivos los cuales proporcionen datos tangibles durante el desarrollo del estudio, por ese motivo se utilizó agar EMB (Eosina y Azul de Metileno), que posee dos elementos no solo indicadores sino con efectos básicamente inhibitorios para bacterias Gram positivas, y componentes que permiten a las bacterias en cuestión la posibilidad de producir una característica que es la fermentación que acidificará el medio.

El uso de la eosina y del azul de metileno permite la diferenciación de las colonias fermentadoras de lactosa de las no fermentadoras. La sacarosa está incluida en el medio para detectar a los miembros del grupo coliforme que fermentan más rápidamente la sacarosa que la lactosa. El Agar EMB es un medio en donde las peptonas proveen la fuente de nitrógeno, la eosina y el azul de metileno son colorantes que se combinan para formar un precipitado a pH ácido. Los carbohidratos proporcionan la fuente de energía, los fosfatos actúan como buffer y el agar como agente solidificante. (27)

- Digerido Pancreático de Gelatina 10.0g
- Lactosa 5.0g
- Sacarosa 5.0g
- Fosfato Dipotásico 2.0g
- Eosina 0.4 g
- Azul de Metileno 0.065g
- Agar Bacteriológico 15.0g
- pH 7.2± 0.2

Método:

Suspender 36 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos. Dejar enfriar a una temperatura entre 45-50°C y vaciar en placas de Petri estériles. (27)



2.9.6. AGAR CITRATO

Dentro del grupo de las coliformes se encuentran bacterias capaces de utilizar el citrato (sal del ácido cítrico importante en el ciclo metabólico conocido como de Krebs), como única fuente de carbono y energía, ayudando durante los procesos metabólicos que poseen estas bacterias en particular, facilitando así su diferenciación en este estudio.

Este medio es utilizado para la diferenciación de bacterias coliformes de las que se puede mencionar a las de origen fecal y las no fecales, las primeras no tienen la capacidad de utilizar el citrato como fuente de carbono ni las sales de amonio como fuentes de nitrógeno, adicionando azul de bromotimol como indicador de pH. Los microorganismos que metabolizan el citrato crecen abundantemente, el medio al ser alcalinizado cambia de color verde a azul intenso. El fosfato de amonio proporciona la fuente de nitrógeno, el magnesio actúa como cofactor de algunas reacciones metabólicas, el fosfato actúa como buffer, el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el agar actúa como agente solidificante. (27)

- Fosfato Dibásico de Amonio 1.0g
- Sulfato de Magnesio 0.02g
- Fosfato Dipotásico 1.0 g
- Azul de Bromotimol 0.08g
- Cloruro de Sodio 5.0 g
- Agar Bacteriológico 15.0g
- Citrato de Sodio 2.0g
- pH 6.9 ± 0.2

Método:

Suspender 24.2 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Dispensar en tubos de vidrio,



tapar y esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos. Dejar enfriar en posición inclinada. (27)

2.9.7. AGAR UREA (Prueba de la Ureasa)

En el estudio que se propuso existía la posibilidad de encontrar varias bacterias pertenecientes al grupo de las coliformes el cual resulta célebremente diverso, por ese motivo era necesario tratar de utilizar medios que puedan potenciar la selectividad dentro de la diferenciación buscada, para ello se utilizaron pruebas como la de la ureasa (Medio de Christensen), que se fundamenta en la capacidad de ciertas bacterias coliformes de hidrolizar la urea, al poseer una enzima llamada ureasa que cataliza la reacción para producir dióxido de carbono y amoniaco.

- Tripteina 1.0g
- Glucosa 1.0g
- Cloruro de sodio 5.0g
- Fosfato monopotasio 2.0g
- Rojo de fenol 0.012g
- Agar 15.0g
- pH 6.8 ± 0.2

Método

Suspender 24 g de polvo en 1000 mL de agua destilada. Dejar reposar 2 minutos. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Enfriar a 50°C y agregar 50 ml de una solución de urea al 40% previamente esterilizada por filtración o cloroformo. Fraccionar en tubos de hemólisis y solidificar en pico de flauta con fondo profundo. (27)

2.9.8. AGAR LIA (Agar Hierro Lisina)

Existe la posibilidad de encontrar microorganismos que tengan la capacidad de desaminar o descarboxilar el aminoácido esencial conocido como lisina y la producción de sulfuro de



hidrógeno, dentro del grupo de las coliformes esta característica es de utilidad para su diferenciación selectiva, es decir, para la identificación más específica de qué tipo de coliforme se está tratando. En este medio la peptona provee la fuente de carbono y nitrógeno, el extracto de levadura provee vitaminas y cofactores para el crecimiento. La dextrosa es la fuente de energía, el hidrocloreuro de L-lisina es el sustrato donde actúan las enzimas descarboxilasa o desaminasa, el citrato férrico de amonio y el tiosulfato de sodio actúan como indicadores de la producción de H₂S. El púrpura de bromocresol es un indicador de pH y el agar es adicionado como agente solidificante. (27)

- Peptona de Gelatina 5.0 g
- L-Lisina 10.0g
- Extracto de Levadura 3.0g
- Tiosulfato de Sodio 0.04g
- Dextrosa 1.0 g
- Citrato de Hierro y Amonio 0.5g
- Púrpura de Bromocresol 0.02 g
- Agar Bacteriológico 13.05g
- pH 6.7 ± 0.2

Método:

Suspender 23 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Dispensar en tubos de vidrio, tapar y esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos. Dejar enfriar en posición horizontal. (27)

2.9.9. AGAR KLIGLER

Se fundamenta principalmente en la capacidad de bacterias pertenecientes al grupo de las Coliformes que pueden fermentar azúcares como la glucosa y lactosa, produciendo sulfuro de hidrógeno en el proceso, esta característica metabólica sirve como prueba relevante en la diferenciación de especies en el grupo coliforme. El medio puede contener



dextrosa, lactosa para la diferenciación de bacilos Gram negativos fermentadores y no fermentadores de lactosa y rojo de fenol como indicador. El extracto de levadura y las peptonas proveen la fuente de nitrógeno, vitaminas y minerales, el sulfato férrico y el tiosulfato son indicadores de la producción de sulfuro de hidrógeno. El cloruro de sodio mantiene la presión osmótica y el agar es adicionado como agente solidificante. (27)

- Mezcla de Peptonas 20.0
- Cloruro de Sodio 5.0
- Lactosa 10.0
- Tiosulfato de Sodio 0.5
- Dextrosa 1.0
- Citrato de Hierro y Amonio 0.5
- Rojo de Fenol 0.025
- Agar Bacteriológico 15.0
- pH 7.4 ± 0.2

Método:

Suspender 52 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Dispensar en tubos de vidrio, tapar y esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos. Dejar enfriar en posición inclinada. (27)

2.9.10. AGAR SIM

Es un medio bastante útil para la diferenciación de bacterias dentro de la familia *Enterobacteriaceae* ya que es posible verificar la movilidad, la producción de indol y de sulfuro de hidrógeno en una misma prueba. Este medio posee peptonas y triptófano que pueden ser usados por bacterias que especialmente las oxidarían para producir indol; esto es debido a que ciertas bacterias poseen enzimas llamadas triptofanasas. La movilidad de ciertas cepas es caracterizada por la turbidez que se observaría alrededor de la picadura en el medio por parte de un objeto inoculante (aza), y es posible ver la producción de sulfuro de hidrógeno por la existencia del sulfuro de hierro a partir de



tiosulfato de sodio siempre que el medio se encuentre a pH de 7.2. El indol se identificaría con el uso del reactivo de Elrich obteniéndose una coloración roja fundamentalmente por el aldehído de dicho reactivo. (27)

- Tripteina 20.0g
- Peptona 6.1g
- Sulfato de Hierro y Amonio 0.2g
- Tiosulfato de sodio 0.2g
- Agar 3.5g
- pH 7.3 ± 0.2

Método

Suspender 30 g del polvo por litro de agua destilada. Mezclar hasta disolver; calentar agitando y hervir durante un minuto. Distribuir unos 4 ml en tubos de hemólisis y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Solidificar en posición vertical. (27)

2.9.11. CALDO MR-VP

Resultó una prueba particularmente útil para la diferenciación de Coliformes. Es interesante saber que en este medio reaccionan las bacterias Coliformes de diferente manera en la presencia de dextrosa y peptona. Es decir, unas producen más ácido que otras. La prueba para detectar a los altos productores de ácido es conocida como Rojo de Metilo (MR). Mientras que para detectar a los que menos producen ácido se conoce como prueba de Voges-Proskauer (VP), que fundamentalmente se basa en la reacción provocada al adicionar hidróxido de potasio y exponer al aire apareciendo la formación de acetilmetilcarbinol. En este medio las peptonas proporcionan la fuente de carbono y nitrógeno. La dextrosa es el carbohidrato fermentable y el fosfato actúa como búffer. (27)

- Mezcla de Peptonas 7.0



- Dextrosa 5.0
- Fosfato de Potasio 5.0
- pH 6.9 ± 0.2

Método:

Suspender 17 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Dispensar en tubos de vidrio, tapar y esterilizar en autoclave a 118- 121°C (no más de 15 libras de presión) durante 15 minutos. (27)

TABLA 9. Posibles resultados de la prueba de MR-VP al añadir los diferentes reactivos por separado

| Prueba | Reacción positiva | Reacción negativa |
|--------------|----------------------|-----------------------------|
| MR | Color rojo brillante | No hay desarrollo de color |
| VP | Color Rojo | El medio no cambia de color |
| Fuente: (27) | | |

2.3. MATERIALES Y REACTIVOS

- Cámara de flujo laminar
- Estufa calibrada (35-37°C)
- Autoclave
- Placas Petri, con agar sangre, agar manitol, agar EMB.
- Tubos con medios para pruebas químicas.
- Microscopio óptico.
- Materiales para tinción de Gram.
- Erlenmeyer
- Hisopos
- Lámpara de alcohol
- Alcohol etílico 70% (solución para sanitizar).



- Alcohol Industrial (combustible).
- Guantes estériles
- Mascarillas
- Porta objetos
- Lápiz graso
- Mandil para laboratorio.
- Cofia.
- Cooler, papel aluminio, toallas, gasa, palillos, algodón, Detergente.

2.4. VALORACIÓN DE LA DESINFECCIÓN POR TIEMPO DE CONTACTO Y DOSIFICACIÓN DEL DESINFECTANTE

Muchas sustancias químicas son capaces de inhibir o eliminar microorganismos; sin embargo, no existe un producto que sea capaz de convertirse en el agente químico ideal para el control microbiológico, porque debería cumplir una serie de propiedades que son prácticamente imposibles de reunir en uno solo. (30)

2.4.1. DEFINICIÓN DE DESINFECTANTE

Agente físico o químico capaz de reducir a niveles insignificantes el número de microorganismos que hay en una superficie. (31)

2.4.2. CARACTERÍSTICAS DEL DESINFECTANTE IDEAL

Actividad bactericida, fungicida, virucida y esporicida.

De acción instantánea

- No ser tóxico en concentraciones de uso
- No tener efectos nocivos sobre el personal aplicador
- No ser corrosivo
- No ser inflamable, irritante, ni producir manchas, ni olores.



- Estable
- Fácil de eliminar
- Capaz de actuar en las más diversas condiciones (acidez, temperatura, materia orgánica).
- Económico (31)

Este ensayo tuvo como objetivo evaluar la efectividad del desinfectante empleado en la limpieza y desinfección de áreas y departamentos del Centro de Documentación Regional Juan Bautista Vásquez.

2.4.3. MÉTODOS

2.4.3.1. MICROORGANISMOS USADOS EN LA PRÁCTICA

Los microorganismos que se utilizaron para evaluar el desinfectante fueron:

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Candida albicans* ATCC 9341
- *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853

ATCC=American Type Culture Collection

2.4.3.2. DESINFECTANTE USADO

El desinfectante usado para realizar el ensayo fue proporcionado por el personal de limpieza del Centro de Documentación Regional Juan Bautista Vásquez.

Nombre: No especificado

Marca: No especificada



2.4.3.3. MATERIALES

Para cada tipo de ensayo se necesitó los siguientes materiales.

- ✓ 1 tubo con 10 mL de caldo nutritivo estéril.
- ✓ 12 tubos estériles.
- ✓ 10 mL de suspensión al 0.3 % de tierra orgánica estéril.
- ✓ 10 mL de suspensión al 1% de tierra orgánica estéril.
- ✓ Pipetas de 1 y 5 mL estériles.
- ✓ 12 cajas de Agar nutritivo.

2.5. PROCEDIMIENTO

2.5.1. PREPARACIÓN DE LA SUSPENSIÓN VALORADA DE BACTERIAS

Para la preparación la suspensión de bacterias, se adicione un tipo de bacterias ATCC a 10mL de caldo nutritivo y se realizó la suspensión a una concentración de 1×10^8 células/mL.

2.5.2. PREPARACIÓN DE LA SUSPENSIÓN DE TIERRA ÓRGANICA AL 0.3 Y 1%

Luego se procedió a realizar la suspensión al 0.3 % de tierra orgánica estéril. Esta suspensión se realizó con tierra orgánica, la misma que se obtuvo en el Orquideario de la Universidad de Cuenca ubicado en Balzay. Para tal motivo se tomó 3g de tierra orgánica y se disolvió en 1Litro de agua destilada obteniendo una suspensión al 0.3% de tierra orgánica lista para el uso.

De la misma manera se preparó la suspensión de tierra orgánica al 1%. Se pesó 1g de tierra orgánica y se disolvió en 100mL de agua destilada obteniendo una suspensión al 1% de tierra orgánica. Luego se precedió a esterilizar.



2.5.3. PREPARACIÓN DE LAS DILUCIONES DEL DESINFECTANTE

Para el ensayo se realizó 3 diluciones a la 0, 1/2, 1/4. Primero se realizó las diluciones respectivas usando suspensiones de tierra orgánica al 0.3%. La dilución a la cero es el desinfectante puro.

Luego de la dilución a la cero se tomó 2 ml y se vació en el tubo rotulado 1/2 a este tubo se adicionó 2ml de la suspensión de tierra orgánica al 0.3% obteniendo así la dilución 1/2.

De la dilución 1/2 se sacó 2ml y se vació en el tubo rotulado a la 1/4 a este tubo se adicionó 2 ml de la suspensión de tierra orgánica al 0.3% obteniendo así la dilución 1/4.

Segundo se realizó las diluciones respectivas usando suspensiones de tierra orgánica al 1%. La dilución a la cero fue el desinfectante puro. Luego de la dilución a la cero se tomó 2mL y se vació en el tubo 1/2 a este tubo se adicionó 2mL de suspensiones de tierra orgánica al 1% obteniendo así la dilución 1/2. De la dilución 1/2 se sacó 2mL y se vació en el tubo a la 1/4 a este tubo se adicionó 2mL de suspensiones de tierra orgánica al 1% obteniendo así la dilución 1/4.

2.5.4. CULTIVO DE LOS MICROORGANISMOS EN LAS DILUCIONES DEL DESINFECTANTE

Una vez preparado tanto la suspensión de bacterias como las diluciones de los desinfectantes se procedió a realizar el tiempo de contacto para valorar la efectividad del desinfectante.

En un tubo limpio se mezcló 1mL de suspensión de bacterias más 1mL de la dilución de los desinfectantes y se tomó el tiempo de 5 minutos y 30 minutos. Pasado los 5 minutos se vertió 1mL en la caja Petri de cada uno de las diluciones, se adicionó el agar nutritivo a una temperatura 45°C, homogenizamos en círculo 4 veces a la izquierda y 4 veces a la



derecha arriba y abajo, izquierda y derecha. Incubamos a 37°C por 24 horas y se realizó el conteo de las colonias.

2.6. INTERPRETACIÓN

Para la valoración convencional del desinfectante se tomó la siguiente referencia. (32)
(UFC=Unidades formadoras de colonia)

TABLA 10: Interpretación de acción del desinfectante

| ACCIÓN DEL DESINFECTANTE | RESULTADO |
|---------------------------------|-----------------------------|
| Acción efectiva total: | Ausencia de crecimiento |
| Acción parcial: | Crecimiento de 1 a 10 UFC |
| Acción poco eficiente: | Crecimiento de 11 a 50 UFC |
| Acción deficiente: | Crecimiento mayor a 50 UFC. |
| Fuente: (25) | |



CAPÍTULO 3

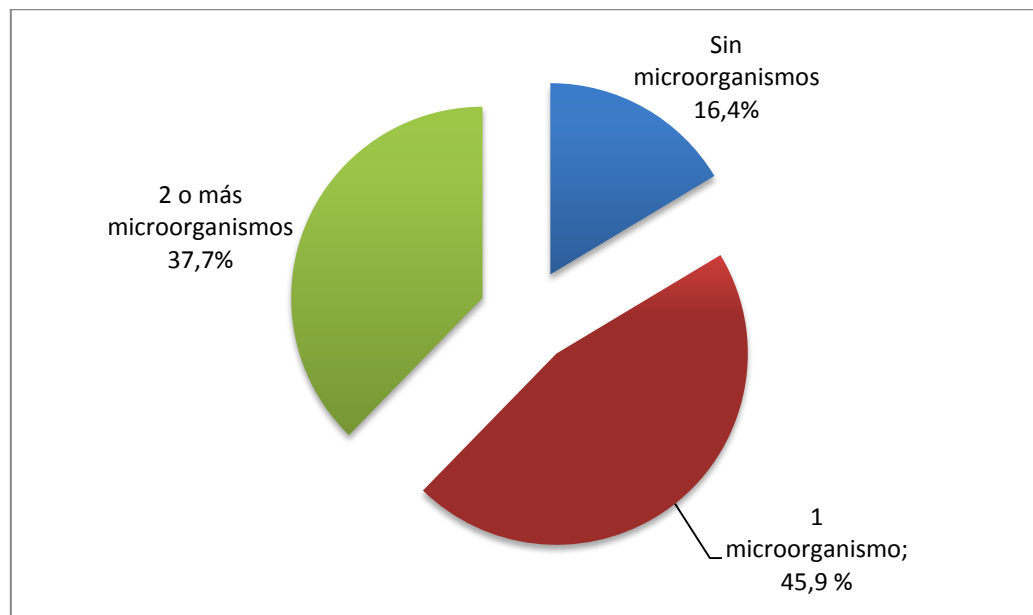
3.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1.1. NIVEL DE CONTAMINACION MICROBIANA

La pesquisa de posibles microorganismos patógenos abarcó un total de 61 teclados de las computadoras del Centro de Documentación Regional “Juan Bautista Vásquez”, localizándose la mayor cantidad en la planta baja de dicha Institución (42 vs. 19 en plantas superiores). Al mismo tiempo la mayor parte de las computadoras eran compartidas por estudiantes, trabajadores y público en general (49 vs. 12 de solo trabajadores).

El análisis microbiológico de las superficies de los teclados indicó que más del 80 % presentaba alguno de los microorganismos evaluados en la presente investigación, de los cuales aproximadamente uno de cada dos equipos tenía más de un tipo de microorganismo (Gráfico 1).

Gráfico 1. Nivel de contaminación microbiológica en los teclados de estudio.





Las computadoras representan actualmente uno de los equipos electrónicos de mayor uso en las bibliotecas de las universidades, ya sea para las búsquedas y consultas en la internet, la realización de trabajos escritos o de análisis, u otras ocupaciones. Por ello no es de extrañar la elevada contaminación de los teclados de estas máquinas por contacto directo con el personal que las utiliza.

La afirmación anterior tiene también sus bases en estudios previos realizados principalmente en hospitales, los que sugieren que la frecuencia de contaminación bacteriana puede ser tan alta como para afectar el 100 % de los teclados de las computadoras así como a los teléfonos celulares, aún en sistemas de salud con guías de higiene hospitalaria y reducción de riesgos bien definidas (Lu et al, 2009; Ulger et al., 2009; Rutala et al., 2006; Harmannn et al., 2004; Schultz et al., 2003; Bures et al., 2000).

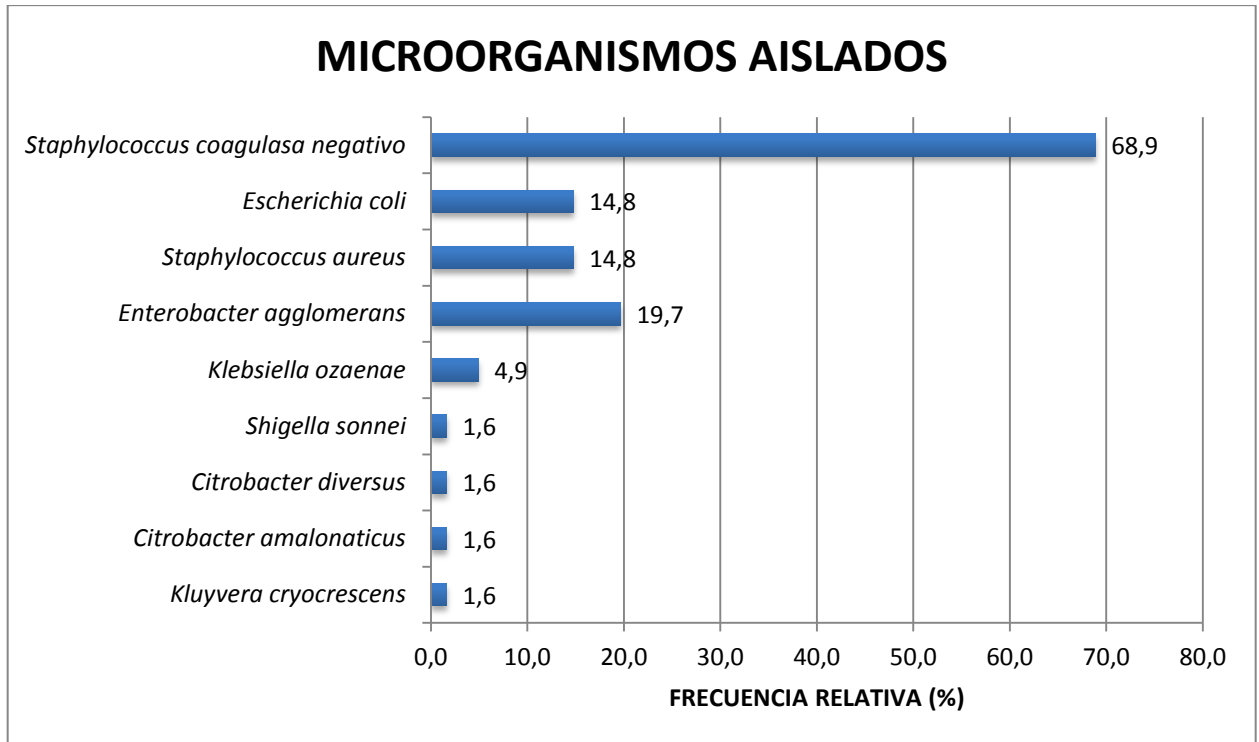
La contaminación por más de un microorganismo puede de este modo afectar a cerca del 50 % de estos dispositivos (Lu et al, 2009), en concordancia con lo obtenido en el presente trabajo. No se ha encontrado reportes de estudio afines en bibliotecas o centros de estudios.

3.1.2. MICROORGANISMOS AISLADOS EN LOS TECLADOS

Entre las bacterias potencialmente patógenas recuperadas se mostró gran heterogeneidad ($P < 0,0001$), donde *Staphylococcus coagulasa* negativa estuvo presente en dos de cada tres teclados seguidas de *Enterobacter agglomerans* (19,7 %), *Staphylococcus aureus* (14,8 %) y *Escherichia coli* (14,8 %). En mucha menor proporción se encontraron *Klebsiella ozaenae* (4,9 %), y con una frecuencia de 1,6 % fueron aisladas *Shigella sonnei*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter amalonaticus* y *Kluyvera cryocrescens* (Gráfico 2).



Gráfico 2. Microorganismos potencialmente patógenos detectados en los teclados del Centro de Documentación Regional “Juan Bautista Vásquez”. Se presentan las frecuencias relativas (%) de cada uno (Prueba de homogeneidad: $P < 0,001$).



Dada la importancia que reviste la posible transferencia de microorganismos patógenos desde superficies inertes hacia el ser humano, es que la mayor parte de los estudios al respecto se enfocan a la caracterización epidemiológica de este proceso y sus implicaciones clínicas en lugares con alta afluencia de personal como los hospitales, casas de ancianos, cafeterías-restaurantes, entre otros. Los estudios en centros informáticos o bibliotecas como el de la presente investigación son relativamente recientes.

Un gran número de bacterias y hongos de diferentes géneros y potencial patogénico se han aislado de ambientes similares al del Centro de Documentación Regional estudiado.

Algunos de estos se resumen en la tabla 11.



TABLA 11: Microorganismos detectados en teclados de computadoras de estudios similares al presente.

| Autores | N | Lugar | Microorganismos aislados |
|---------------------------|----------|--|---|
| Chimezie et al. 2013 | 250 | Cyber Cafés y laboratorios múltiples de cómputo. <i>Ebonyi State University</i> , Nigeria. | <i>Staphylococcus sp.</i> <i>Bacillus sp.</i> <i>Escherichia sp.</i> <i>Pseudomonas sp.</i> |
| Chukwudi et al 2013 | 250 | Cyber Cafés y laboratorios múltiples de cómputo. <i>Ebonyi State University</i> , Nigeria. | <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus sp.</i> <i>Escherichia sp.</i> <i>Pseudomonas sp.</i> |
| Ashgar and El-Said 2012 | 157 | Computadoras de siete lugares públicos de la Ciudad de la Mecca, Arabia Saudita. | <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Bacillus sp.</i> |
| Enemour et al. 2012 | 30 | Centros de cómputo y Cyber Cafés de la <i>Kogi State University</i> , Nigeria. | <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Enterococcus sp.</i> <i>Streptococcus sp.</i> |
| Nwankiti et al. 2012 | 25 | Cyber Café del <i>National Veterinary Research Institute</i> , Nigeria. | <i>Bacillus sp.</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus coagulasa negativa</i> <i>Streptococcus sp.</i> <i>Diphtheroides</i> Mohos y levaduras |
| Kumar and Srivastava 2012 | 50 | Laboratorios de cómputo del <i>Himachal Group Institute</i> , India. | <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Micrococcus sp.</i> <i>Streptococcus sp.</i> <i>Escherichia coli</i> |
| Chairman et al. 2011 | 15 | Salas de cómputo, <i>M.S. University</i> , India. | <i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella typhi</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> |
| Anderson and Palombo 2009 | 15 | Laboratorios de cómputo de usos múltiples. <i>Hawthorn University of Technology</i> , Australia. | <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterobacteriaceae sp.</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Bacillus cereus</i> Mohos y levaduras. |

N: tamaño muestral, número de teclados investigados.



De lo anterior se deriva que a pesar de que pudiera existir una gran variedad de microorganismos contaminantes de las superficies de los teclados, de forma general las bacterias del género *Staphylococcus* y las enterobacterias son las más frecuentemente detectadas. Los resultados del presente estudio están en consonancia con este planteamiento.

La frecuencia de contaminación por un microorganismo u otro depende en gran medida de las condiciones típicas y microflora residente en los diferentes ecosistemas de los lugares y países estudiados. Es por ello que comparar el tipo o el porcentaje de veces que se detecta un microorganismo sobre la superficie de los teclados puede mostrar grandes diferencias entre un estudio y otro.

3.2. CONTAMINACIÓN MICROBIANA Y LOCALIZACIÓN DE LAS COMPUTADORAS

A pesar de que no hubo una asociación matemática significativa entre la localización relativa de las computadoras con la cantidad de microorganismos contaminantes, si se debe notar que la probabilidad (P) de error tipo I es menor de 0,15 (tabla 12). Dicho de otro modo, si se aceptara la hipótesis alternativa de que las variables “localización vs. cantidad de microorganismos” son dependientes entre si se estaría cometiendo solo un error máximo del 15 %, lo que hace pensar que tales resultados pudieran estar afectados por el tamaño muestral.

De esta forma, en las plantas superiores se registró el 52,6 % de los teclados contaminados con más de un microorganismos frente a un 30,9 % en las plantas bajas.

**TABLA 12. Cantidad de microorganismos diferentes según localización de las computadoras.**

| Microorganismos | Localización | |
|-----------------|--------------|--------------------|
| | Planta baja | Plantas superiores |
| 0 | 9 | 1 |
| 1 | 20 | 8 |
| 2 ó mas | 13 | 10 |
| P | 0,149 | |

P: probabilidad de error tipo I determinado por la prueba Chi-cuadrado de Pearson.

Algunos autores han hecho referencia a que aún dentro de un mismo campus universitario, el grado de contaminación microbiana de los teclados de las computadoras en los Cyber Cafés y laboratorios de cómputo de usos múltiples puede ser diferente. Se plantea que ello puede deberse sobre todo a la pobre higienización de de tales dispositivos electrónicos y a la elevada afluencia de personal (Anderson and Palombo, 2009; Chairman et al., 2011; Nwankiti et al., 2012).

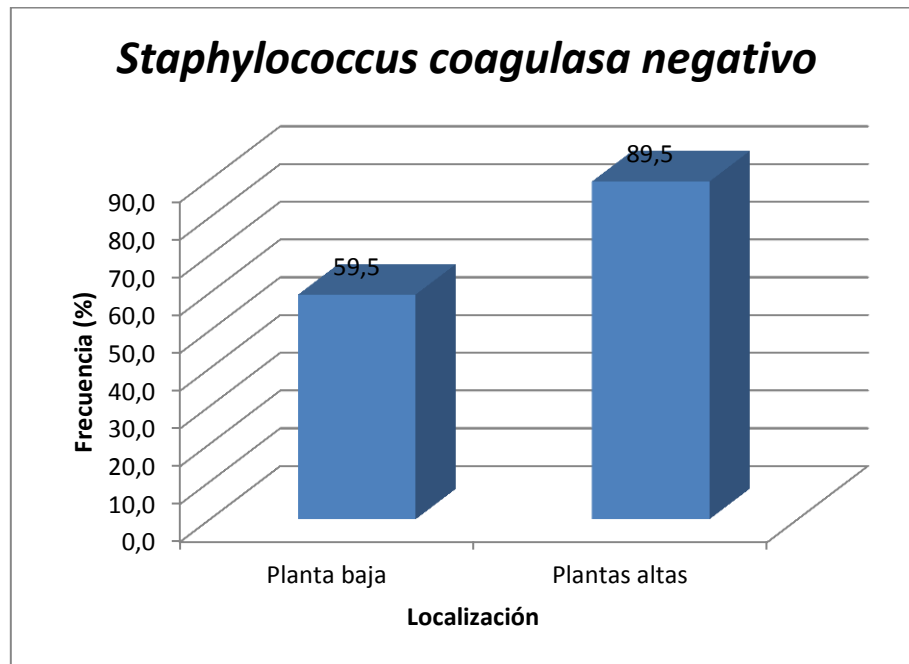
Tratando de esclarecer dicho comportamiento se realizó entonces un análisis de cuáles eran los microorganismos más frecuentes según la localización espacial de las computadoras. Para ello se dividieron las computadoras en dos grandes grupos: las que se encontraban en la planta baja y las que se encontraban en niveles superiores del Centro de Documentación. Se evaluó así la contaminación microbiológica por coliformes y *Staphylococcus sp.*

3.2.1. PORCENTAJE DE *Staphylococcus* COAGULASA NEGATIVA EN RELACIÓN CON LA LOCALIZACIÓN

En el gráfico 3 se presentan los resultados para la presencia de *Staphylococcus* coagulasa negativa en los niveles mencionados, del que se observa una mayor frecuencia en la planta alta (89,5 % vs. 59,5% en la planta baja) de la Institución.



Gráfico 3. Relación entre la frecuencia relativa (%) de *Staphylococcus coagulasa* negativa y la localización de los teclados (P=0,0171).



Staphylococcus coagulasa negativa tradicionalmente son considerados como patógenos de baja virulencia. Sin embargo, estudios de las últimas décadas lo reconocen como una de las principales causas de enfermedades en ambientes intrahospitalarios, asociados además a una elevada resistencia a antibióticos del tipo meticilinas que en algunos casos supera el 70 % de los aislamientos. De esta forma, como microorganismos oportunistas, su participación en afecciones cardiovasculares, urinarias, de la piel y respiratorias se describen frecuentemente (Diekema et al., 2001; Castillo et al., 2002; Leal et al., 2002; Revilla et al., 2005).

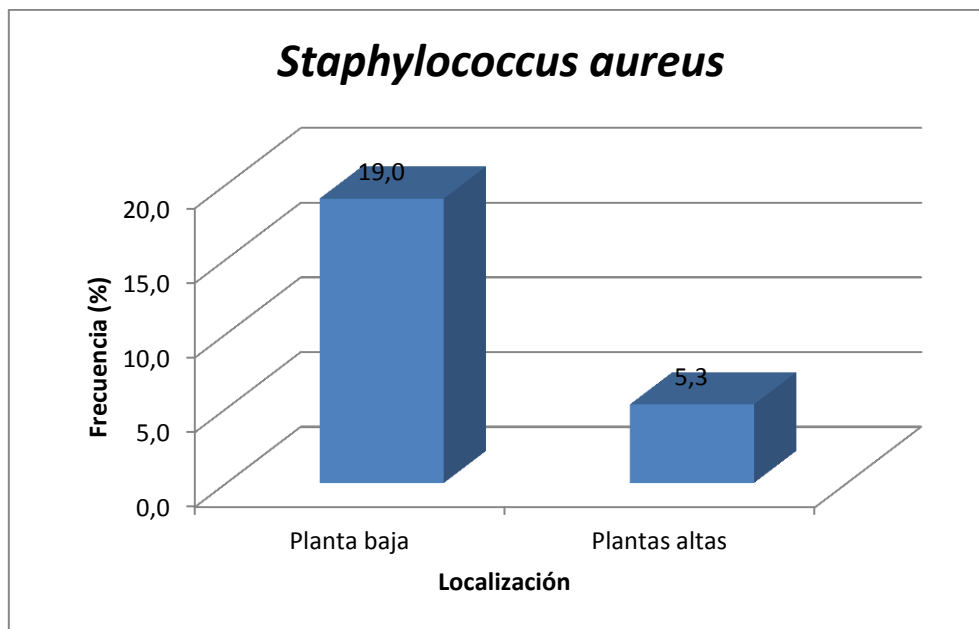
La presencia de estos microorganismos en los teclados de las computadoras puede deberse así a que algunos de ellos forman parte de la flora normal de la piel, lo que denota entonces una contaminación por contacto.



3.2.2. PORCENTAJE DE *Staphylococcus aureus* EN RELACIÓN CON LA LOCALIZACIÓN

La frecuencia de *Staphylococcus aureus* fue de 19,0 % en la planta alta vs. 5,3% en la planta baja. Aunque estas frecuencias no muestran relación matemática con la localización de las computadoras para el nivel de error aceptado de $P < 0,05$ (gráficos 4), se debe notar nuevamente que la probabilidad de error tipo I es cercana al 15 %, lo cual sugiriera que tal relación pudiera manifestarse a un mayor tamaño muestral.

Gráfico 4. Relación entre la frecuencia (%) de *Staphylococcus aureus* y la localización de los teclados ($P=0,1550$).



El *Staphylococcus aureus* es un agente etiológico de múltiples enfermedades que incluyen infecciones de la piel, sistema nervioso central, tracto respiratorio, tracto genitourinario, endocarditis, entre otras, ocupando un papel primordial en las infecciones nosocomiales (Gil, 2000). Su importancia actual está estrechamente relacionada con el desarrollo de patrones de resistencia a múltiples antibióticos (Diekema et al, 2001).

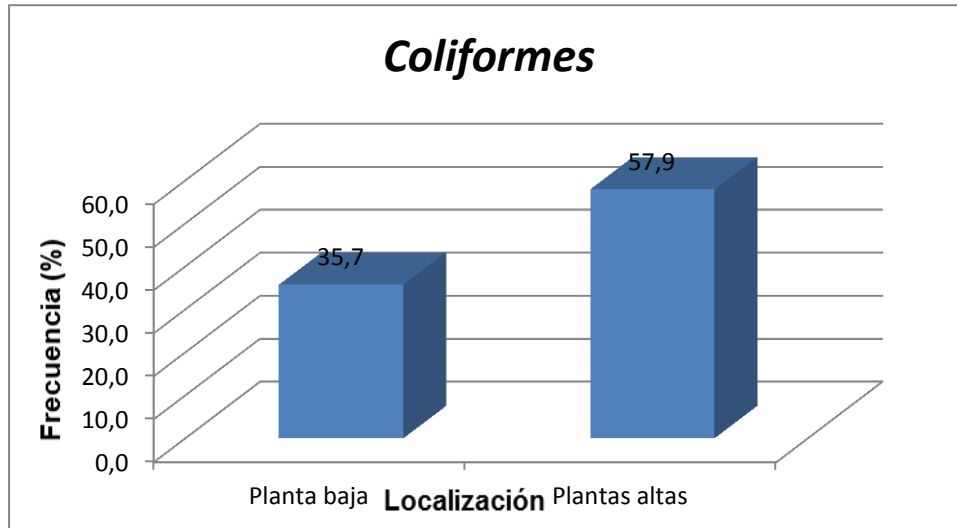


De forma similar a los *Staphylococcus* coagulasa negativa su presencia en los teclados puede estar asociada a su presencia en la piel transfiriéndose a estos por contacto con los dedos de los usuarios.

3.2.3. PORCENTAJE DE COLIFORMES EN RELACIÓN CON LA LOCALIZACIÓN

De forma similar a lo que ocurrió con *Staphylococcus* sp. el aislamiento de los coliformes de los teclados no presentó relación matemática con los sitios en los que se encontraban las computadoras (57,9 % planta alta vs. 35,7 % planta baja). No obstante haciendo un análisis similar al realizado para el caso de los microorganismos anteriores, la probabilidad de error tipo I en este caso es menor del 10 %, lo que pudiera sugerir diferencias significativas a mayores tamaños muestrales.

Gráfico 5. Relación entre la frecuencia (%) de *coliformes* y la localización de los teclados (P=0,090).



La presencia de Coliformes y en especial por *E. coli* se emplean generalmente como indicadores de contaminación fecal, lo que en este caso también indicaría una deficiente higiene de los dispositivos electrónicos investigados.



Algunos autores sostienen que la localización de las computadoras puede constituir un factor importante en la frecuencia de contaminación bacteriana, especialmente cuando estas se encuentran en condiciones ambientales que eleven la supervivencia de los microorganismos (Lu et al., 2009).

La persistencia ambiental de bacterias potencialmente patógenas sobre superficies inertes puede durar meses. En este sentido, Neely y Maley (2000) investigaron la sobrevivencia de 22 tipos de bacterias Gram positivas en diferentes materiales de uso frecuente en los hospitales. Detectaron así que en productos a base de algodón, poliéster o plástico los microorganismos inoculados sobrevivían al menos un día. El caso de *S. aureus* los valores se prolongaron desde un día hasta varios meses, sin importar su susceptibilidad o no a los antibióticos de uso frecuente. Algo similar ocurrió con las enterobacterias investigadas.

Otros autores también indican una permanencia de hasta varios meses para bacterias Gram negativas como las *Acinetobacter sp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Pseudomonas sp.* y *Shigella sp.*, entre otras (Kramer et al., 2006).

Estos resultados han sido corroborados por diversas investigaciones, indicando siempre una dependencia con múltiples factores como las normas de higienización, la frecuencia de desinfección y la composición del desinfectante, el tiempo de desinfección, el tipo y la textura de tales superficies inertes (Rutala et al., 2006; Otter et al, 2011; Boyce 2007; Kramer et al., 2006; Grundmann et al.,2006; Dharan et al., 1999).

En este sentido, un estudio realizado en el *University Hospital of Geneva*, Suiza, sobre 1356 muestras de superficies inertes no solo indica que las enterobacterias y *S. aureus* eran los microorganismos más frecuentes, sino que no bastaba con una limpieza rutinaria con el desinfectante comúnmente empleado para eliminar la carga contaminante (Dharan et al., 1999).



3.3. MICROORGANISMOS Y NIVEL DE ACCESO

El Centro de Documentación investigado tiene una gran afluencia de personal, entre estudiantes, trabajadores y público en general, los que acuden con cierta frecuencia a realizar consultas y trabajos en sus computadoras como es propio de estos locales.

En el presente estudio, la frecuencia de contaminación como se muestra entre las computadoras compartidas por varios usuarios (estudiantes y público) fue de 87,8 % mientras que las empleadas solo por trabajadores fue de 66,7 %.

TABLA 13: Cantidad de microorganismos diferentes según nivel de acceso o personal que utiliza las computadoras.

| Microorganismos | Nivel de acceso | |
|-----------------|-----------------------|-------------------|
| | Estudiantes y público | Solo trabajadores |
| 0 | 6 | 4 |
| 1 | 25 | 3 |
| 2 ó mas | 18 | 5 |
| P | 0,129 | |

P: probabilidad de error tipo I determinado por la prueba Chi-cuadrado de Pearson.

Estos resultados coinciden en parte con los presentados por otros autores, los que plantean que el nivel de acceso a las computadoras determina estrechamente no solo la frecuencia de contaminación sino además el tipo de microorganismo presente (Nwankiti et al., 20012; Chairman et al., 2011; Anderson et al., 2009).

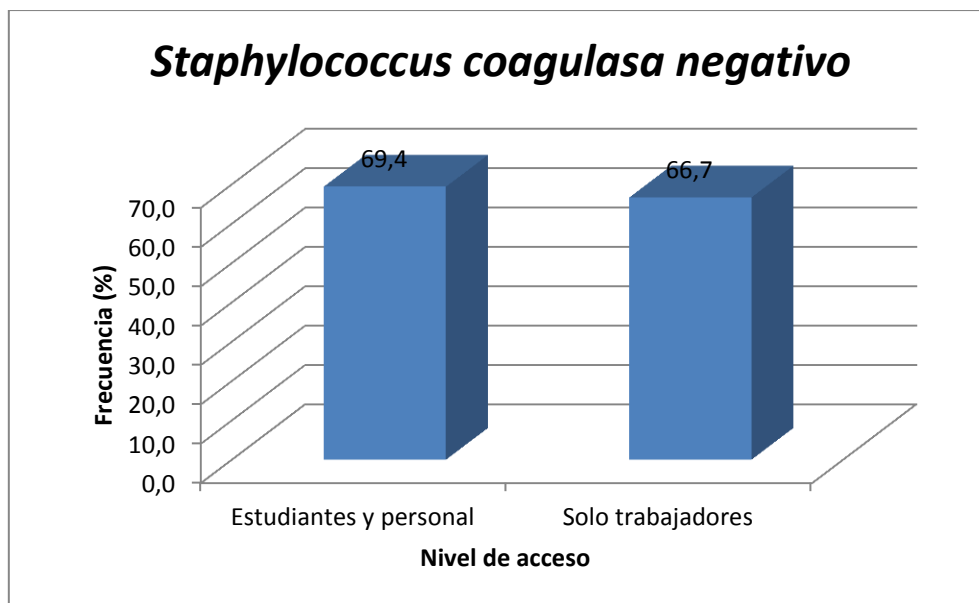
Por ello, y considerando además la heterogeneidad del personal que accede al uso de las computadoras, en el presente trabajo también se investigó si la variable nivel de acceso se relaciona con la presencia de alguno de los microorganismos aislados con más frecuencia en los teclados de los ordenadores.



3.3.1. PORCENTAJE DE *Staphylococcus* COAGULASA NEGATIVA EN RELACIÓN CON EL NIVEL DE ACCESO A LAS COMPUTADORAS

El gráfico 6 muestra la frecuencia en la que se presentó *Staphylococcus* coagulasa negativa entre los teclados utilizados por estudiantes o público en general y en aquellos en los que solo acceden trabajadores. En este caso los porcentajes de contaminación por estos microorganismos entre los teclados que emplean los estudiantes y público en general (69,4 %), respecto a los que emplean solo los trabajadores (66,7 %) no mostraron diferencias significativas.

Gráfico 6. Frecuencia relativa de *Staphylococcus* coagulasa negativa entre los teclados empleados por estudiantes o personal general y aquellos exclusivamente de los trabajadores (P = 0,5545).



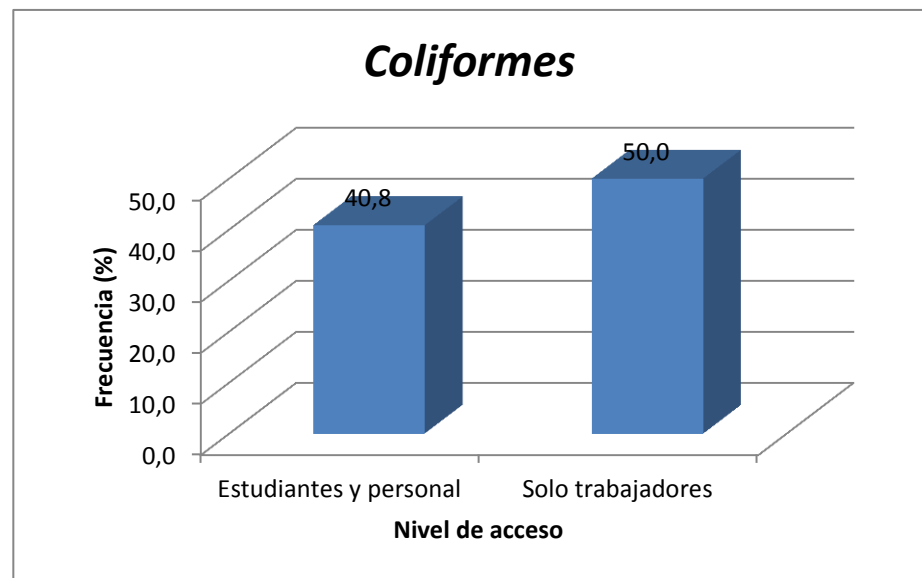
En cualquiera de los casos, la frecuencia de *Staphylococcus* coagulasa negativa es elevada en comparación a otro estudio similar realizado en Nigeria, en el que se reporta una contaminación por estos microorganismos de tan solo el 4 % de los teclados (Nwankiti et al., 2012). Estas discrepancias pueden deberse a diferentes condiciones epidemiológicas entre ambos países.



3.3.2. PORCENTAJE DE *COLIFORMES* EN RELACIÓN CON EL NIVEL DE ACCESO A LAS COMPUTADORAS

De forma similar a punto anterior, la contaminación con bacterias coliformes tampoco mostró relación con el nivel de acceso a las computadoras. No obstante se debe notar que en ambos casos la proporción de estos microorganismos supera el 40 % lo que es considerado elevado.

Gráfico 7. Frecuencia relativa de *coliformes* entre los teclados empleados por estudiantes o personal general y aquellos exclusivamente de los trabajadores ($P = 0,3978$).



En este sentido, la investigación en este campo realizada por Nwankiti et al. (2012) indica una presencia de coliformes, especialmente *E. coli*, inferior al 20 % de estos dispositivos electrónicos. Por su parte, Anderson et al. (2011) indican asimismo que las enterobacterias se pueden aislar con una frecuencia menor al 20 %. En ambos estudios y en contraposición a lo observado en el presente trabajo, la presencia de bacterias de



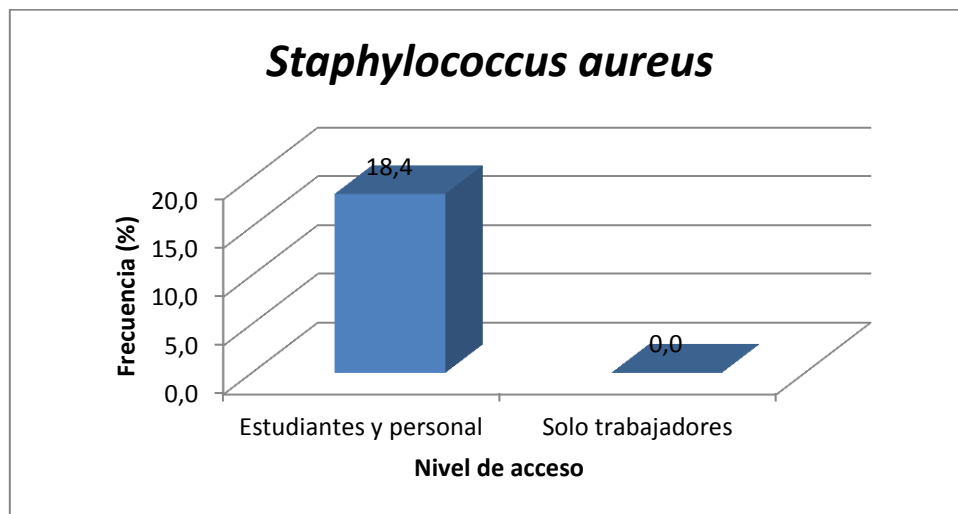
origen gastrointestinal y fecal se detectó mayormente entre los teclados de uso frecuente por múltiples usuarios respecto a los empleados por una sola persona.

3.3.3. PORCENTAJE DE *Staphylococcus aureus* EN RELACIÓN CON EL NIVEL DE ACCESO A LAS COMPUTADORAS

En este estudio no se detectó la presencia de *Staphylococcus aureus* de los teclados de computadoras empleadas solo por los trabajadores, mientras que en aquellos utilizados por los estudiantes y público en general fue del 18,4%.

La probabilidad de error al afirmar que si hubo asociación entre la presencia de *S. aureus* y nivel de acceso fue aproximadamente de un 12 %, lo que sugiere nuevamente la necesidad de incrementar el tamaño muestral para reducir el nivel de error estándar y así poder detectar si existen o no tal relación entre estas variables (Gráfico 8).

Gráfico 8. Frecuencia relativa de *Staphylococcus aureus* entre los teclados empleados por estudiantes o personal general y aquellos exclusivamente utilizados por los trabajadores (P = 0,1185).



S. aureus es uno de los microorganismos más frecuentemente detectado entre los dispositivos electrónicos empleados por múltiples usuarios, llegando en algunos casos a aislarse de aproximadamente el 50 % de ellos (Nwankiti et al., 2012; Anderson et al., 2009). El nivel de acceso se relaciona así también con el grado de contaminación por este microorganismo, siendo unas 100 veces mayor el conteo bacteriano entre aquellos teclados de uso por muchos usuarios a los empleados por solo unos pocos (Chairman et al., 2011).



Se debe considerar que la higiene personal, especialmente la de las manos, puede influir sobre la tasa de contaminación de los teclados por éste y todos los microorganismos anteriores. En este sentido, Lu et al. (2009) en Taiwan detectaron que solo el 40 % del personal de salud presentaba una buena higiene de sus manos y que esto se relacionaba significativamente con la contaminación microbiana en los teclados o el ratón de las computadoras (los que representaron el 17,4 % del total de 282 ordenadores).

Algo similar a lo anterior reportaron Ulger et al. (2009), los que investigaron las manos y los teléfonos celulares de 200 profesionales y trabajadores de la salud en Turquía. De estos se observó que más del 94,5 % de los equipos presentaban indicios de contaminación bacteriana. Un poco más del 50 % estuvo contaminado con *S. aureus* de los que un tercio era resistente a antibióticos de uso común.

Aunque la presencia de un microorganismo potencialmente patógeno sobre una superficie inerte no necesariamente ocasiona una enfermedad por transmisión cruzada, se debe considerar que la dosis infectiva para la mayoría de los agentes patógenos nosocomiales relacionados con el ambiente puede ser tan baja como tan solo 15 células para *S. aureus* (Otter et al., 2011). De esta forma, aunque la cantidad de bacteria patógena presente sea pequeña, constituye un riesgo para la salud de la persona con la cual se ponga en contacto. Resultados que no son exactamente comparables con los del presente trabajo por tratarse de ambientes hospitalarios.

Es de especial interés el control de la higiene de las superficies de uso común, tales como aquellas presentes en establecimientos como el Centro de Documentación de la Universidad investigada. Es de notar que en este caso y con la información recopilada hasta el momento, la elevada tasa de contaminación en este recinto bibliotecario podría ser producto tanto de una mala higiene del personal, como de una escasa limpieza de las computadoras. Es por ello que se decidió evaluar el poder desinfectante del químico empleado en la limpieza de los locales de la biblioteca.



3.4. VALORACIÓN DE LA DESINFECCIÓN POR TIEMPO DE CONTACTO Y DOSIFICACIÓN DEL DESINFECTANTE

Los resultados de la capacidad desinfectante por tiempo de contacto del agente químico empleado en la limpieza de los locales del Centro de Documentación investigado, se muestran en la tabla 14.

De estos resultados se puede concluir que para los microorganismos de prueba empleados, aunque tan solo se requiere de 5 minutos de contacto con el agente químico, las diluciones requeridas son diferentes, necesitándose el desinfectante aproximadamente puro para eliminar la *E. coli* y *P. aeruginosa* mientras que para *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* este se puede diluir al 25 %. Por ello se concluye que para la limpieza de las computadoras no se debe diluir este agente químico.

TABLA 14: Capacidad desinfectante por tiempo de contacto y dosificación.

| Microorganismo | Suspensión tierra orgánica 0,3 % | | Suspensión tierra orgánica 1 % | |
|----------------------|----------------------------------|--------------|--------------------------------|--------------|
| | Tiempo (min.) | Dilución (%) | Tiempo (min.) | Dilución (%) |
| <i>E. coli</i> | 5 | 100 | 5 | 100 |
| <i>S. aureus</i> | 5 | 25 | 5 | 25 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 5 | 100 | 5 | 100 |
| <i>C. albicans</i> | 5 | 25 | 5 | 25 |

Debido a que el lavado de manos previo y después del uso de las computadoras puede ser impracticable e imperfecto en la mayoría de los casos, varios han sido los estudios que han intentado implementar un sistema de sanitización de los teclados de las computadoras.

Rutala et al. (2006) en este sentido probaron la eficacia de diferentes agentes desinfectantes (Hipoclorito de Sodio, alcohol, fenol, amonio cuaternario) empleados en un programa de higienización de teclados de computadoras establecido con una frecuencia de hasta dos veces por día. Estos autores obtuvieron una efectividad de más del 95 % de los casos, aún en aquellos teclados limpiados con agua destilada. En este caso después



UNIVERSIDAD DE CUENCA

de 300 ciclos no se detectó ningún daño físico sobre tales aditamentos electrónicos. Algo similar obtuvieron Chukwudi et al (2013) en una investigación en los Cyber Cafés de los campus de la *Ebonyi State University* de Nigeria.

En el presente trabajo se obtienen evidencias de que el desinfectante empleado puede eliminar algunas de las bacterias más frecuentes en los teclados del Centro de Documentación investigado, con tan solo 5 minutos de contacto.



3.5. CONCLUSIONES

1. En los teclados estudiados del Centro de Documentación Regional Juan Bautista Vásquez durante el periodo de abril a junio del 2013, se detectó una gran variedad de microorganismos potencialmente patógenos, siendo los más frecuentes *Staphylococcus aureus* (14,8%) y coliformes (45,8%).
2. La localización y el nivel de acceso en general pudieran estar asociados a la frecuencia de los microorganismos presentes en las computadoras.
3. Mediante el ensayo de valoración por tiempo de contacto y dosificación del desinfectante usado en el Centro de Documentación Regional Juan Bautista Vásquez se pudo concluir que al 100% de su concentración fue efectivo para bacterias coliformes, mientras que en menor concentración fue eficaz para *S. aureus* y otros tipos de microorganismos.
4. Se realizó una exposición de los resultados obtenido en la presente investigación en el aula magna de la Facultad de Ciencias Químicas dirigido a los estudiantes y público en general, cumpliendo así a cabalidad los objetivos planteados en esta investigación.



3.6. RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio en el que se investigue la efectividad y eficacia de diferentes agentes desinfectantes en la reducción de la contaminación microbiana de los teclados de la biblioteca.
2. Diseñar un programa de higiene de las computadoras donde se tengan en cuenta no solo el tipo de desinfectante a emplear sino además la frecuencia y el orden de tales desinfecciones.



BIBLIOGRAFÍA:

1. **Negróni.** *MICROBIOLOGÍA ESTOMATOLÓGICA.* BUENOS AIRES - ARGENTINA : EDITORAIL MEDICA PANAMERICANA, 2009.
2. **Guillen, Prats.** *Microbiología Clínica I.* Buenos Aires- Madrid : PANAMERICANA, 2007.
3. **Delgado, Dr. Wilson Salazar.** *MANUAL DE PRACTICAS DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA.* QUITO-ECUADOR : s.n., 2007.
4. **Pahissa, Albert.** *Infecciones Producidas por Staphylococcus aureus.* España : IGG Marge,SL, 2009.
5. **Seija, V.** Género Staphylococcus. [aut. libro] Seija V. *Etiopatogenia y microbiológica.* 2008, págs. 257-271.
6. **Weissfeld, Forbes * Sahm *.** *Diagnóstico Microbiológico.* 12a Edición. España : Panamericana, 2007. págs. 254-255.
7. **Case, Tortora, Funke.** *Itriducción a la Microbiología.* 9a edición. Madrid - España : Panamericana, 2007. pág. 2.
8. **Rosenthal, Patrick R. Murray- Ken S.- Michael A. Pfaller.** *Microbiología Médica.* españa : Student consult, 2009.
9. **Camarena, JJ.** INFECCIÓN POR Staphylococcus aureus. [En línea] 2010. [Citado el: lunes de Agosto de 2013.] <http://www.seimc.org/control/revisiones/bacteriologia/sarm.pdf>.
10. **Bermejo, Dra. Verónica.** www.scielo.org.ar/. www.scielo.org.ar/. [En línea] 2012. [Citado el: 03 de 09 de 2013.] <http://www.scielo.org.ar/pdf/medba/v72n4/v72n4a02.pdf>.
11. **Bylund, Gösta.** *Manual De Industrias Lacteas.* s.l. : Mundi-Prensa, 2008. págs. 57-58.
12. **Camacho, A., M.Giles, A.Ortegón, M.Palao, B.Serrano y O.Velázquez.** [En línea] 2009. [Citado el: jueves de Agosto de 2013.] http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Tecnic-Basicas-Coliformes-en-placa_6528.pdf.
13. **Muñoz, Celia María Castro.** [En línea] 27 de julio de 2009. [Citado el: Jueves de Agosto de 2013.] <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/6154/2/Coliformes%20totales%20Celia%20CAstro.pdf>.
14. **Health, North Carolina Public.** www.ncdhhs.gov/espanol. www.ncdhhs.gov/espanol. [En línea] 09 de 2009. [Citado el: 22 de 08 de 2013.] http://epi.publichealth.nc.gov/oee/docs/Las_Bacterias_Coliformes_WellWaterFactSt.pdf.



15. **Señoret, Dr. Lucas Pedro Pablo Burchard.** [En línea] 13 de Abril de 2008. [Citado el: 22 de Agosto de 2013.] <http://www.slideshare.net/lucasburchard/coliformes>.
16. **Alarcón, Luis Roberto.** *Manual de practicas de Microbiología básica y Microbiología de alimentos.* 2001. pág. 83.
17. **FAO.** *fao.org. fao.org.* [En línea] 2007. [Citado el: 22 de 08 de 2013.] <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0480s/i0480s02.pdf>.
18. **Raul, Romero Caballero.** *Microbiología y parasitología humana.* 3a edición . MEXICO : Panamericana, 2007.
19. *Enterobacterias.* **Mateos-Rodríguez, A. Puerta-García y F.** 2010, España., Hospitalario Universitario de Albacete. Albacete., págs. 3426-3431.
20. **Estudiantes.** Microbe Wiki. [En línea] junio de 2010. [Citado el: 08 de agoato de 2013.] http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Computer_Keyboard#Where_is_it_located.3F.
21. **Texas, Departamento de Seguros.** *tdi.texas.gov.* [En línea] 2005. [Citado el: viernes de agosto de 2013.] <http://www.tdi.texas.gov/pubs/videoresourcessp/spfskeyboard.pdf>.
22. **Tecnológico, Mi Blog.** MI BLOG TECNOLOGICO. [En línea] 2010. [Citado el: 09 de AGOSTO de 2013.] <http://www.miblogtecnologico.com/2010/11/virus-en-los-teclados-mouses-controles.html>.
23. **Microbiología, LAB.3M.** 3M. PROCEDIMIENTO DE MONITOREO AMBIENTAL. [En línea] 2000. [Citado el: 29 de MARZO de 2013.] <http://www.chemicalcenter.com.ar/folletos/Petrifilm/Ambientales%20e%20Hisopado.pdf>.
24. **Galvez, César, y otros, y otros.** S. aureus. [En línea] 15 de noviembre de 2006. [Citado el: 20 de marzo de 2013.] <http://staphylococcus-aureus.blogspot.com/>.
25. **Adelina, Astudillo Machuca.** *MICROBIOLOGIA E HIGIENE DE LOS ALIMENTOS.* CUENCA : s.n., 2012.
26. **Google.** AGAR EMB. [En línea] 01 de ENERO de 2009. [Citado el: 15 de MARZO de 2013.] <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/embagar.htm>.
27. **LAB, MCD.** ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO. *AGAR EOSINA Y AZUL DE METILENO.* [En línea] 23 de 06 de 2011. [Citado el: 15 de MARZO de 2013.] <http://www.mcd.com.mx/pdfs/AGAR%20EOSINA%20Y%20AZUL%20DE%20METILENO.pdf>.
28. **MCD LAB.S.A. de C.V.** *mcd.com. mcd.com.* [En línea] 2011. [Citado el: 15 de 07 de 2013.] http://www.mcd.com.mx/pdfs/caldo_soya_tripticaseina.pdf.



29. —. *mcd.com*. *mcd.com*. [En línea] 05 de 08 de 2010. [Citado el: 25 de 07 de 2013.] <http://www.mcd.com.mx/pdfs/BASE%20DE%20AGAR%20SANGRE.pdf>.
30. **Secretaría Distrital de Salud de Bogotá, D.C.** USOS DE DESINFECTANTES. [En línea] JUNIO de 2004. [Citado el: MIÉRCOLES de JUNIO de 2013.] <http://www.saludcapital.gov.co/sitios/VigilanciaSaludPublica/Todo%20IIH/007%20Desinfectantes.pdf>.
31. **Martínez, Dra. D^a. Pilar Gutiérrez.** [En línea] 2000. [Citado el: 08 de 28 de 2013.] <http://virtual.inea.org/web/campus/asig/300000002102/Tema%207.%20def.pdf>.
32. **Adellina, Astudillo Machuca.** *MICROBIOLOGIA E HIGIENE DE LOS ALIMENTOS*. CUENCA : s.n., 2012.
33. *forospyware*. *forospyware*. [En línea] 05 de Mayo de 2008. [Citado el: 17 de Julio de 2013.] www.forospyware.com/t167291.html.
34. **Galvez, César, y otros, y otros.** *blogger.com*. [En línea] 07 de Noviembre de 2006. [Citado el: 02 de septiembre de 2013.] <http://staphylococcus-aureus.blogspot.com/>.
35. **Boehme, Dr. Gonzalo Ossa y Dra. Cecilia.** *MED.UFRO*. [En línea] 2007. [Citado el: 19 de AGOSTO de 2013.] http://www.med.ufro.cl/clases_apuntes/medicina-interna/infectologia/docs/infecciones-estafilococicas.pdf.
36. **Graham PL, Lin SX, Larson EL.** A U.S. population-based survey of *Staphylococcus aureus* colonization. *Ann InternMed* 2006;144:318-325.
37. **Dharan S, Mourouga P, Copin P, Bessmer G, Tschauz B, Pittet D.** Routine disinfection of patients' environmental surfaces. Myth or Reality? *J Hosp Inf* 1999;42:113-117.
38. **Neely AN, Maley MP.** Survival of *Enterococci* and *Staphylococci* on Hospital Fabrics and Plastic. *J ClinMicrobiol* 2000;38(2):724.
39. **Lu PL, Siu LK, Chen TC, Ma L, Chiang WG, Chen YH et al.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Acinetobacterbaumannii* on computer interface surfaces or hospital wards and association with clinical isolates. *BMC Infectious Diseases* 2009;9:164.
40. **Ulger F, Esen S, Dilek A, Yanik K, Gunayden M, Leblebicioglu H.** Are we aware how contaminated our mobile phones with nosocomial pathogens? *Ann ClinMicrobiolAntimicrobiol* 2009;8:7.
41. **Otter JA, Yezli S, French GL.** The role played by contaminated surfaces in the transmission of nosocomial pathogens. *Infect Control HospEpidemiol* 2011;32(7):687-99.

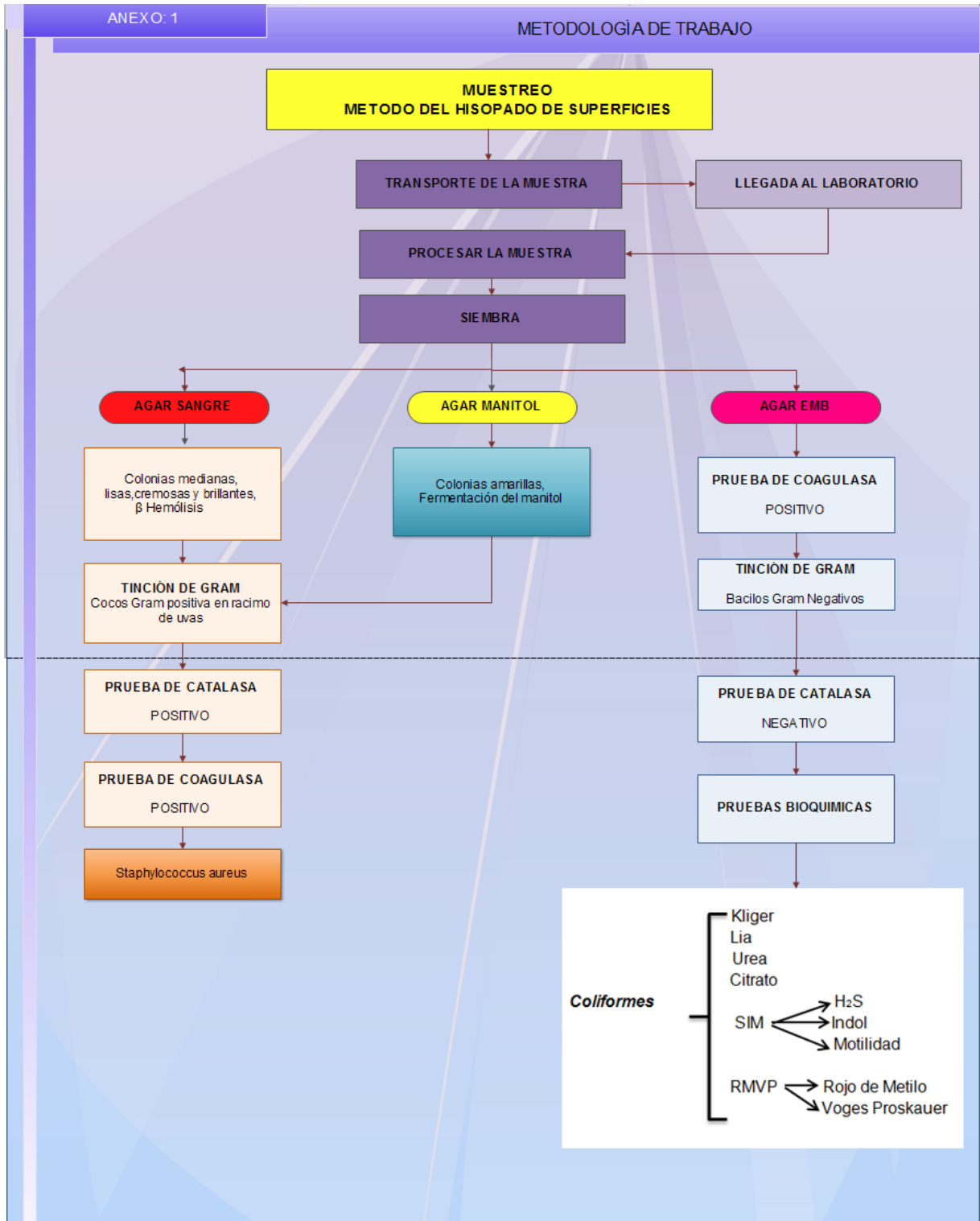


42. **Boyce JM.** Environmental contamination makes an important contribution to hospital infection. *J HospInfect* 2007;65(S2):50-54.
43. **Oie S, Hosokawa I, Kamiya A.** Contamination of room door handles by methicillin-sensitive/methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J HospInfect* 2002;51:140-43.
44. **Kramer A, Schwebke I, Kampf G.** How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC InfectiousDiseases* 2006;6:130.
45. **Grundmann H, Aires de Sousa M, Boyce J, Tiemersma E.** Emergence and resurgence of methicillin-resistance *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *TheLancet* 2006;368(9538):874-85.
46. **Rutala W, White MS, Gergen MS, Weber DJ.** Bacterial Contamination of keyboards: efficacy and functional impact of disinfectants. *Infect Control HospEpidemiol* 2006;27:372-77.
47. **Bures S, Fishbain JT, Uyehara CR, Parker JM, Berg BW.** Computer keyboards and faucet handles as reservoirs of nosocomial pathogens in the intensive care unit. *Am J Infect Control* 2000;28:465-71.
48. **Schultz M, Gill J, Zubairi S, Huber R, Gordin F.** Bacterial contamination of computer keyboards in a teaching hospital. *Infect Control HospEpidemiol* 2003;2:302-3.
49. **Harmann B, Benson M, Junger A et al.** Computer keyboard and mouse as a reservoir of pathogens in an Intensive Care Unit. *J ClinMonitComput* 2004;18:7-12.



ANEXOS

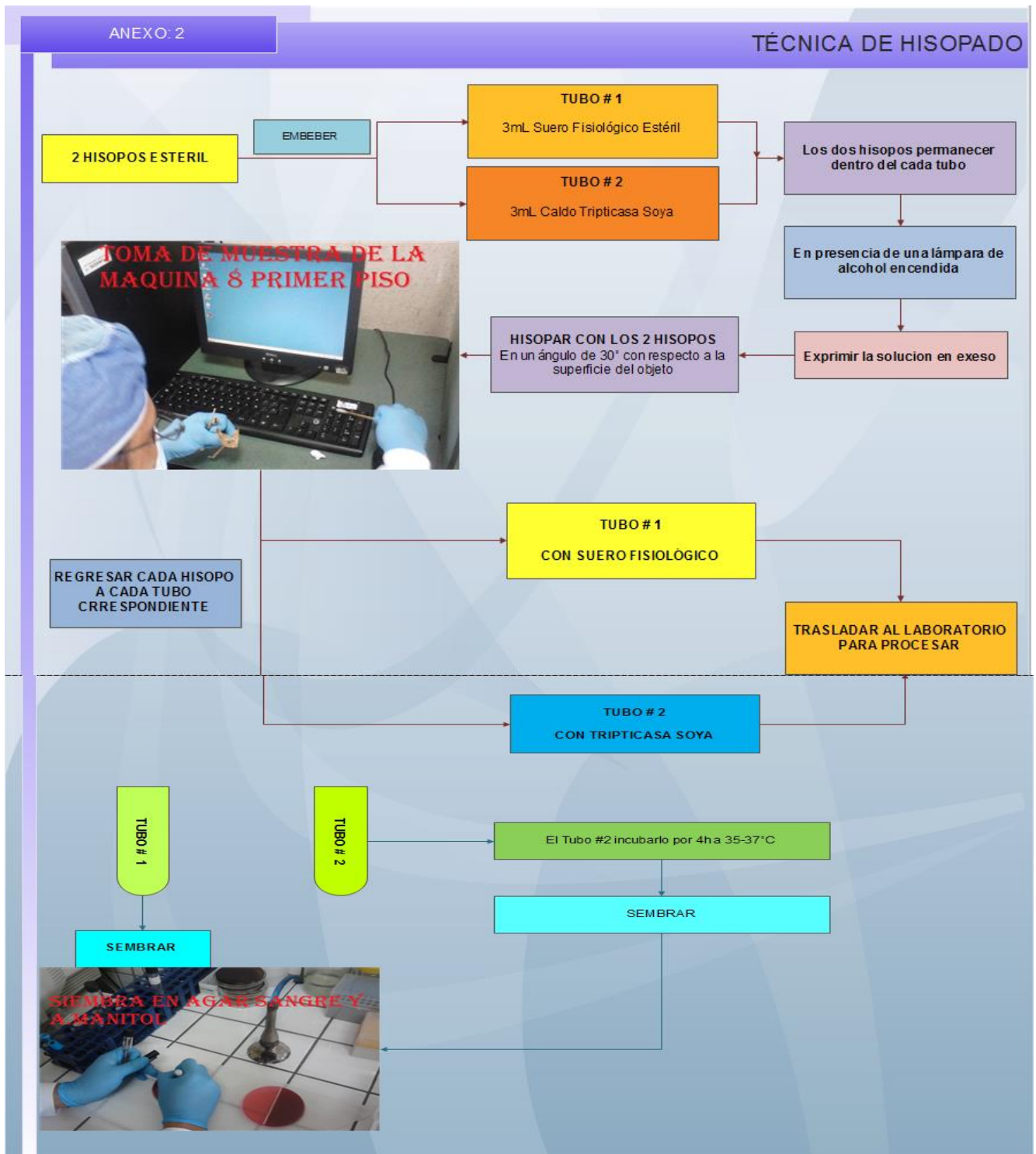
ANEXO 1: METODOLOGÍA DE TRABAJO.





ANEXO 2:

TÉCNICA DE HISOPADO PARA LA TOMA DE MUESTRA





ANEXO 3

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

PREPARACION DE SUERO FISIOLÓGICO al 0.9 %

Distribuir el suero fisiológico en los tubos.

Ejemplo.

1 tubo-----3ml suero fisiológico
15 tubos x=45 ml de suero fisiológico

ANEXO 4

PREPARACION DE CALDO TRIPTICASA SOYA.

Hacer los cálculos respectivos para cada tubo:

Ejemplo.

1 tubo-----3ml agua destilada
15 tubos x=45 ml de agua destilada

Hacemos los cálculos para ver cuánto de agar tripticasa soya vamos a pesar.

Ejemplo:

30gr ATS-----1000ml agua destilada
45 ml de agua destilada

X=PESAMOS. 1.35 g de agar tripticasa soya y disolver en 45 ml de agua destilada



ANEXO 5

PREPARACIÓN DE AGAR SANGRE

Realizar los Cálculos respectivos para la cantidad de agar que se va a necesitar y la capacidad que puede contener en cada caja. En el ejemplo siguiente queremos preparar 30 cajas Petri con Agar Base Sangre.

Ejemplo:

$$\begin{array}{r}
 1 \text{ caja} \text{ -----} 20\text{mL de capacidad} \\
 30 \text{ cajas} \qquad \qquad \qquad x=600\text{mL necesarios}
 \end{array}$$

Para la preparación de 600mL de Agar Base Sangre, es necesario la lectura de la cantidad recomendada por el fabricante del medio, en este caso el fabricante recomienda suspender 40g del medio en un litro de agua destilada o purificada.

Ejemplo:

$$\begin{array}{r}
 40\text{g} \text{ -----} 1000\text{mL}/1\text{L agua purificada} \\
 X=24\text{g para las 30cajas} \qquad 600\text{mL}/0.6\text{L}
 \end{array}$$

Es recomendable mantener después de la esterilización en Baño María hasta llegar a unos 45°C que es una temperatura óptima para la adición de sangre de cordero sano para consumo humano previamente extraída de manera aséptica y desfibrinada. A continuación los cálculos:

Ejemplo:

$$\begin{array}{r}
 600\text{mL} \text{ -----} 100\% \\
 X=30\text{mL de sangre de cordero} \qquad 5\%
 \end{array}$$



ANEXO 6

PREPARACIÓN DE AGAR MANITOL

Al igual que la preparación del medio anterior tiene que realizarse los cálculos para la cantidad de cajas que se requiera siguiendo las recomendaciones del fabricante del medio. A continuación un ejemplo de ello.

Ejemplo:

$$\begin{array}{r}
 1 \text{ caja} \text{-----} 15 \text{ mL de capacidad} \\
 10 \text{ cajas} \qquad \qquad x=150 \text{ mL de Agar Manitol}
 \end{array}$$

Ejemplo:

$$\begin{array}{r}
 111\text{g} \text{-----} 1000\text{mL}/1\text{Lt agua purificada} \\
 X=16.65\text{g para } 10 \text{ cajas} \quad 150 \text{ mL}/0.15\text{Lt}
 \end{array}$$

ANEXO 7

PREPARACIÓN DE AGAR EMB

Así mismo es necesario de acuerdo al número de cajas que se requerirá verificar su capacidad y tomar en cuenta las recomendaciones del fabricante del medio para las respectivas preparaciones. En el siguiente ejemplo una breve descripción.

Ejemplo

$$\begin{array}{r}
 1 \text{ caja} \text{-----} 15\text{mL} \\
 15 \text{ cajas} \qquad \qquad x= 225\text{mL de agua para Agar EMB}
 \end{array}$$

Ejemplo:

$$\begin{array}{r}
 36\text{g} \text{-----} 1000\text{mL}/1\text{Lt de agua purificada} \\
 X=8.1\text{g de Agar EMB} \quad 225\text{mL}
 \end{array}$$



ANEXO 8

PREPARACIÓN DE AGAR CITRATO

Es un medio de coloración verdosa, se requiere tubos apropiados para su utilización que nos facilite la inclinación del medio y la formación de un bisel. En los ejemplos a continuación se describe los cálculos correspondientes dependiendo de la capacidad de los tubos que se utilizaran y siguiendo las recomendaciones del fabricante del medio de cultivo.

Ejemplo:

1 tubo-----3ml
15 tubos x=45 mL de agua para Agar Citrato

Ejemplo:

24g-----1000mL/1Lt de agua purificada
X= 1.08g de agar Citrato 45 mL

ANEXO 9

PREPARACIÓN DE AGAR UREA

Tiene que tomarse en cuenta que la adición de urea microfiltrada tiene que ser después de la preparación del medio base ya que dicho componente puede degradarse durante la esterilización a altas temperaturas, al igual que el medio anterior es necesario disponer de tubos que faciliten su inclinación y nos brinden el desarrollo de un bisel. Para ello en el siguiente ejemplo se describe los cálculos a seguir con un capacidad conocida del volumen en cada tubo y siguiendo las recomendaciones del fabricante del medio.

Ejemplo:

1 tubo-----3mL



UNIVERSIDAD DE CUENCA

10 tubos x=30 mL de agua para Agar Urea base

Ejemplo:

21g-----1000mL/1L agua purificada
X= 0.63 g de agar urea base 30mL

Ejemplo:

30mL-----100%
x=3 mL de urea microfiltrada 10%

ANEXO 10

PREPARACIÓN DE AGAR LIA

Es un medio de coloración púrpura y al igual que los otros medios descritos es necesario tener tubos apropiados que nos permitan desarrollar un bisel, para ello es necesario realizar los cálculos correspondientes y seguir las recomendaciones del fabricante del medio. El siguiente ejemplo describe brevemente los cálculos a seguir.

Ejemplo:

1 tubo-----5mL
10 tubos x=50mL de agua para Agar LIA

Ejemplo:

34.5g-----1000mL/1Lt
X= 1.725g de agar LIA 50mL



ANEXO 11

PREPARACIÓN DE AGAR KLIGER

Este tipo de medio sólido de coloración rojiza tiene que seguir los mismos requerimientos que para los medios antes descritos para tubos; y los cálculos correspondientes se describirán brevemente en el siguiente ejemplo.

Ejemplo:

1 tubo-----5mL
 10 tubos x=50mL de agua para Agar KLIGER

Ejemplo

52g-----1000mL/1Lt
 X= 2.6g de agar LIA 50mL

ANEXO 12

PREPARACION DE AGAR SIM

Este medio de coloración ámbar, para tubos, difiere de los otros medios descritos para tubos, por el motivo de que no es requerida una inclinación para la formación de un bisel. Los cálculos para su utilización suponiendo ser conocida la capacidad de los tubos y siguiendo las recomendaciones del fabricante se describen en el siguiente ejemplo.

Ejemplo:

1 tubo-----2mL
 10 Tubos x=20mL de agua para Agar SIM

Ejemplo:

36.4g-----1000 mL/1Lt
 x=0.728 de Agar KLIGER 20mL



ANEXO 13

PREPARACION DE CALDO MR-VP

Este medio de cultivo para tubos difiere de lo anteriores al no solidificar, pero se requiere seguir los pasos apropiados para su preparación de acuerdo a la cantidad de tubos que se requiere y por supuesto contar con las recomendaciones del fabricante del medio.

Ejemplo:

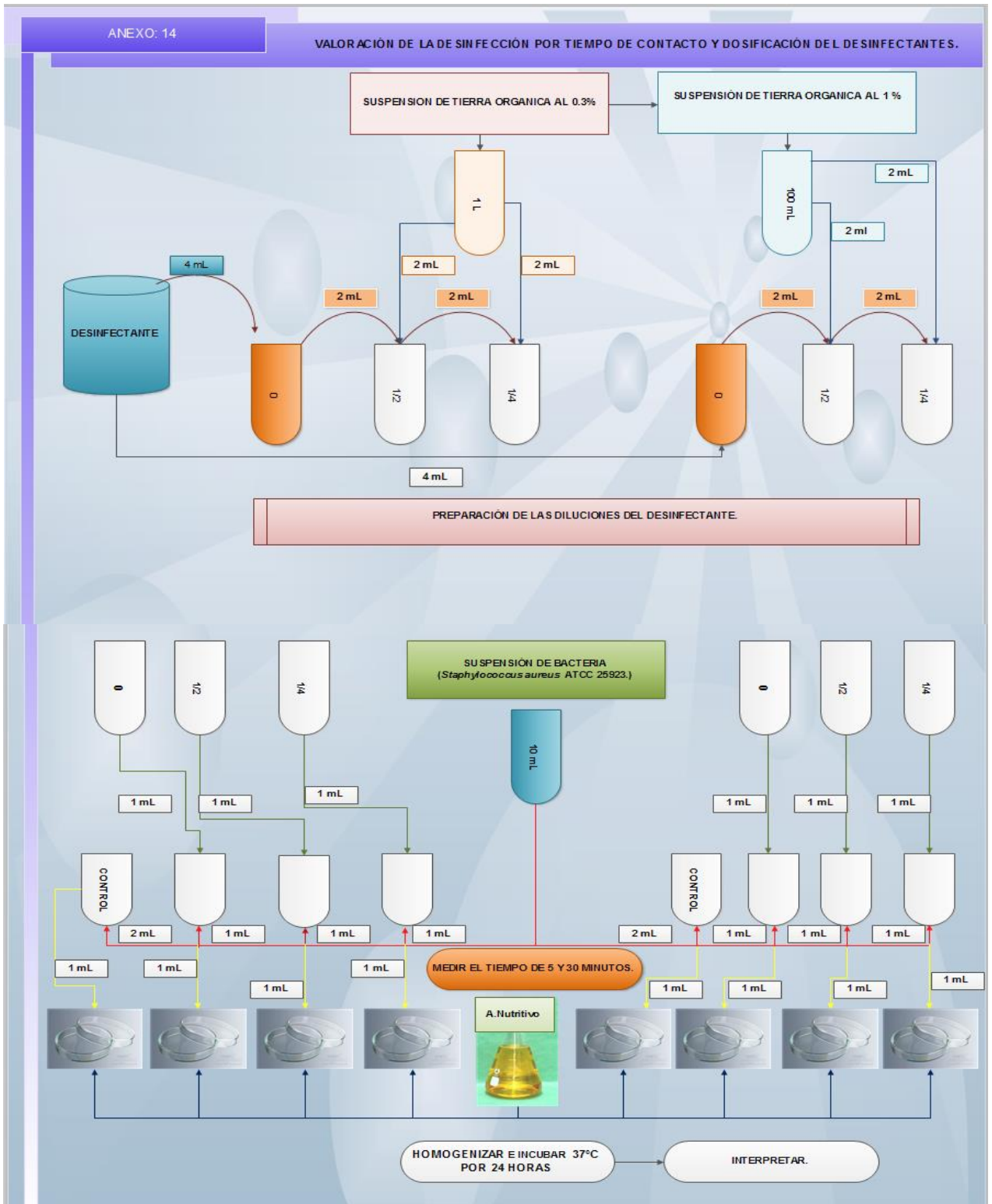
1 tubo-----2mL
10 Tubos x=20mL de agua para Caldo MR-VP

Ejemplo:

17g-----1000 ml/ 1Lt
X=0.34g Caldo MR-VP 20mL

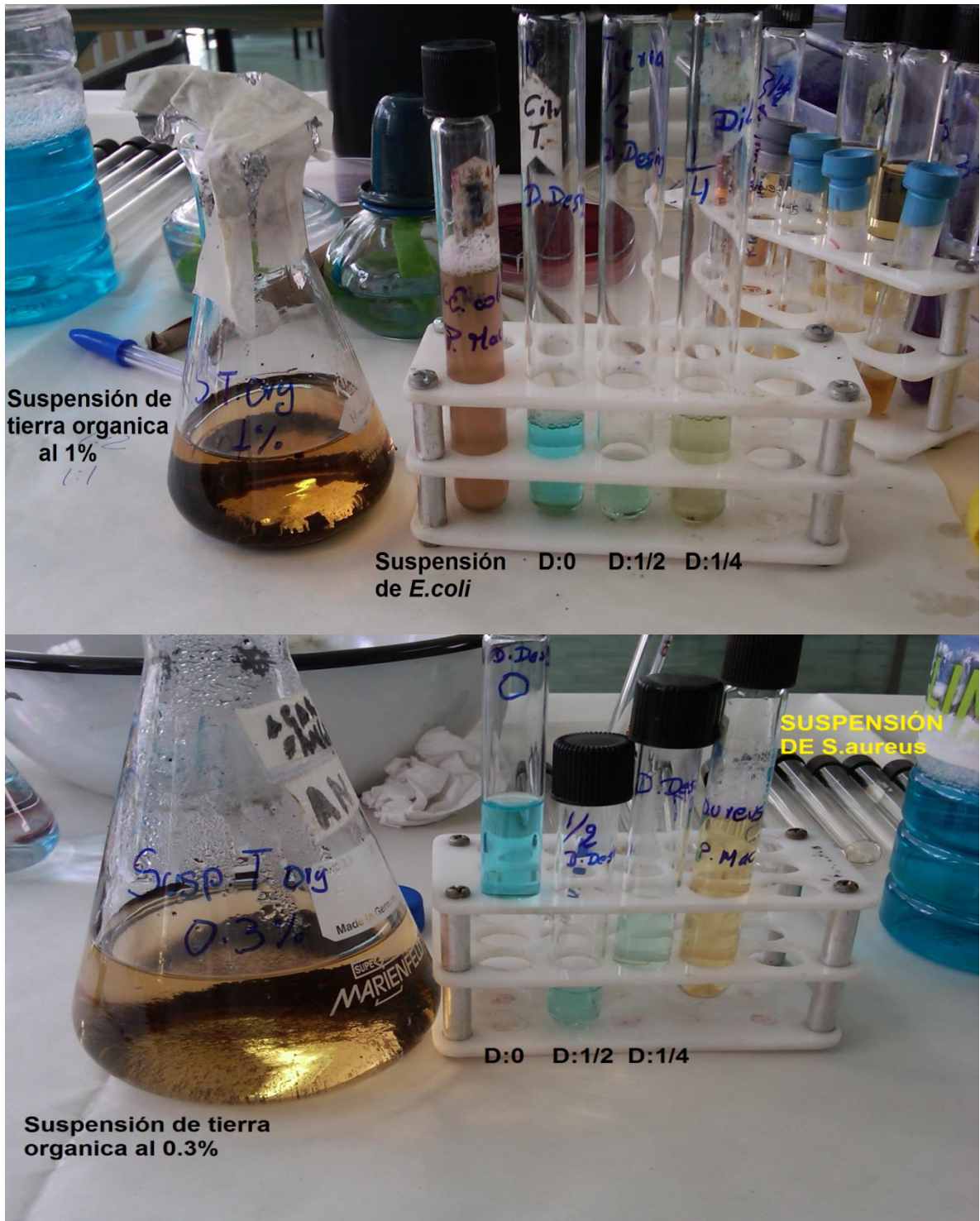


ANEXO 14: VALORACIÓN DE LA DESINFECCIÓN POR TIEMPO DE CONTACTO Y DOSIFICACIÓN DEL DESINFECTANTES.





ANEXO 15: VALORACIÓN DE DESINFECTANTES (MATERIALES Y REACTIVOS)





ANEXO 16: VALORACIÓN DE DESINFECTANTES (RESULTADOS)

