

**“Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional”  
UNIVERSIDAD NACIONAL “HERMILIO VALDIZAN”  
ESCUELA DE POSGRADO**



---

**“CONTAMINACIÓN MICROBIANA EN COMPUTADORAS  
DE CABINAS PÚBLICAS EN LIMA  
METROPOLITANA - 2017”**

---

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE  
MAESTRO EN  
SALUD PÚBLICA Y GESTION SANITARIA**

**TESISTA: José, RINCON CHAVEZ**

**HUANUCO – PERU  
2018**

## **DEDICATORIA**

A mi madre y mis hijas Andrea y Sandra por darle sentido a mi vida y A mi familia por las enseñanzas de vida.

José, RINCON CHAVEZ

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por ser quien ilumina mi camino

A mis hermanos que es lo más valioso que Dios me ha dado.

A mi maestra Dra. Dolores Bazalar de Valdivia, Microbióloga  
por naturaleza e inspiradora de la ciencia y del saber

(U.N.M.S.M.)

José, RINCON CHAVEZ

## RESUMEN

Esta investigación está basada en la determinación de *Staphylococcus aureus* y coliformes en los teclados de las computadoras de las cabinas de internet de los distritos de Villa María del Triunfo, Villa el Salvador y Puente Piedra en la Provincia de Lima.

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 Mac Conkey, agar EMB y agar manitol, para recuperar e identificar a cada una de las bacterias presentes en los teclados de las cabinas de internet de tres distritos de Lima considerados de distintos niveles socioeconómicos, como son San Borja, Puente Piedra y Villa El Salvador, siendo las bacterias más frecuentes encontradas *Staphylococcus aureus* y coliformes fecales

Palabras claves: Teclados de computadoras, alimentos, *Staphylococcus aureus*, coliformes fecales.

## **SUMMARY**

This research is based on the determination of *Staphylococcus aureus* and coliforms on the keyboards of the internet booth computers in the districts of Villa María del Triunfo, Villa El Salvador and Puente Piedra in the Province of Lima.

In this study, it was possible to demonstrate the presence of potentially pathogenic bacteria for humans. 61 random samples of the keyboards were taken using sterile swabs and seeded in triplicate on blood agar, Mac Conkey agar, EMB agar and mannitol agar, to recover and identify each of the bacteria present in the keyboards of the internet booths. three districts of Lima considered of different socioeconomic levels, such as San Borja, Puente Piedra and Villa El Salvador, being the most frequent bacteria found *Staphylococcus aureus* and fecal coliforms

Key words: Computer keyboards, food, *Staphylococcus aureus*, fecal coliforms.

## INTRODUCCIÓN

Las computadoras constituyen un equipo útil en todas las actividades diarias, más aun en los estudios, es muy frecuente realizar labores mientras se está trabajando en las computadoras, como comer o preparar alimentos, lo que constituye un peligro por la contaminación existente alrededor.

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 de las cabinas de internet de los distritos de Villa María del Triunfo, Villa el Salvador y Puente Piedra en la Provincia de Lima; ya que no se tiene datos

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, con el fin de verificar la hipótesis planteada de la presencia en los teclados de los microorganismos mencionados.

En el presente trabajo se tratará las investigaciones recientes similares sobre este tema, luego la parte experimental, toma de muestra, proceso y resultados, finalmente la parte de conclusiones y resultados

Espero que este trabajo contribuya a mejorar los cuidados que se deben realizar en la limpieza y prevención de enfermedades transmisibles por el constante uso de las computadoras mediante los malos hábitos higiénicos.

**INDICE**

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	iv
SUMMARY	vi
INTRODUCCIÓN	vii
CAPÍTULO I	
1 EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	10
1.1. Descripción del problema	10
1.2. Formulación del problema	11
Problema general	11
Problemas específicos	11
1.3. Objetivo General y objetivos específicos	12
1.4. Hipótesis y/o sistema de hipótesis	12
1.5. Variables	13
1.6. Justificación e importancia	14
1.7. Viabilidad	15
1.8. Limitaciones	15
CAPÍTULO II	
2 MARCO TEÓRICO	16
2.1. Antecedentes de la investigación	16
2.2. Bases teóricas	19
2.3. Genero estafilococo	21
2.4. Clasificación de estafilococos	24
2.5. Enfermedades frecuentes por estafilococos	30
2.6. Epidemiología	30
2.7. Coliformes	32
2.8. Enfermedades causadas por bacterias coliformes	35
2.9. Descripción del lugar de investigación	38
2.10. Definiciones conceptuales	44
CAPÍTULO III	
3 MARCO METODOLOGICO	47
3.1. Tipo de investigación	47
3.2. Metodología de investigacion	47
3.3. Diseño y esquema de investigacion	48
3.4. Poblacion y muestra	49



3.6.	Toma de muestra	50
3.7.	Técnica para el cultivo	52
3.8.	Técnica para cultivo de coliformes	55
3.9.	Medios de cultivo diferenciales	60
3.10.	Materiales y reactivos	73
CAPITULO IV		
4.	RESULTADOS	74
4.1.	Contaminación microbiana	74
4.2.	Contaminación y localización de las computadoras	80
4.3.	Nivel de acceso computadoras	82
CAPITULO V		
5	DISCUSION DE RESULTADOS	90
5.1	Discusión y comparación de resultados	90
5.2.	Aporte científico de la investigación	91
CONCLUSIONES		92
RECOMENDACIONES		93
BIBLIOGRAFÍA		94
ANEXOS		98

## CAPITULO I

### 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

#### 1.1 Descripción del problema

Las computadoras son herramientas indispensables para todo tipo de trabajo, sea comercial, técnico o profesional, por lo que su uso, es común en cualquier proceso de la vida, por ello, se ha convertido en el compañero ideal, de las personas y más aún en este mundo tecnificado.

Sin embargo, muchos problemas orgánicos se deben al tiempo excesivo que se pasa frente a la pantalla del aparato mencionado, y aunque la mayoría de las enfermedades pueden ser de tipo sensorial, también hay otras que se deben a la presencia de microorganismos que, pueden afectar a las personas de diversas maneras desde un simple malestar hasta una enfermedad grave que, lleve a reposo absoluto, lo cual perjudica al trabajador, sin saber las causas exactas de tales males.

La mayoría de los casos de enfermedad transmitida por alimentos se describen como esporádicos, se trata de casos que, aparentemente no están relacionados, sin embargo, se han comprobado que dos o más de ellos sí lo están, y el causante puede ser la manipulación de aparatos e instrumentos.

La contaminación orgánica consiste en una acumulación exagerada de moléculas originadas por organismos vivos, lo cuales pueden estar en diversos lugares, su

mecanismo de acción explica que basta concentraciones mínimas para producir efectos negativos en los seres vivos.

La investigación se realizara en tres distritos de Lima Metropolitana en las cabinas públicas y dentro de centros educativos que también son públicos para los trabajadores y alumnos, en número considerable para medir el nivel de contaminación con bacterias peligrosas que pueden causar alteraciones en el organismo

## **1.2 Formulación del problema**

### **➤ Problema general**

¿Cuál es el grado de microorganismos contaminantes en computadoras de cabinas públicas de distritos socioeconómicos diferenciados de Lima Metropolitana?

### **➤ Problemas específicos**

- 1) ¿Cuál es el grado de contaminación microbiana existente en computadoras de cabinas públicas en distritos socioeconómicos diferenciados de Lima Metropolitana?
- 2) ¿Cuáles son los tipos de contaminantes microbianos existentes, en computadoras de cabinas públicas en distritos socioeconómicos diferenciados de Lima Metropolitana?
- 3) ¿Cuáles serían los diferentes contaminantes encontrados en computadoras de cabinas públicas en distritos socioeconómicos diferenciados de Lima Metropolitana?

## **Objetivo General y objetivos específicos**

### ➤ **Objetivo General**

Evaluar la presencia de microorganismos contaminantes en computadoras de cabinas públicas de distritos socioeconómicos diferenciados de Lima Metropolitana.

### ➤ **Objetivos específicos**

#### **3.2.-Objetivos específicos**

- A- Evaluar el grado de contaminación microbiana existente en computadoras de cabinas públicas de distritos socioeconómicos diferenciados de Lima Metropolitana.
- B- Identificar los tipos de contaminantes microbianos existente en computadoras de cabinas públicas de distritos socioeconómicos diferenciados de Lima Metropolitana.
- C- Valorar los diferentes tipos de contaminantes microbianos en computadoras de cabinas públicas de distritos socioeconómicos diferenciados de Lima Metropolitana.

## **1.4 Hipótesis y/o sistema de hipótesis**

### ➤ **Hipótesis General**

Las computadoras de las cabinas públicas ubicados en los estratos socioeconómicos bajos en Lima Metropolitana, presentan gran contaminación microbiana.

➤ **Hipótesis específicas**

- a) Las computadoras de las cabinas públicas ubicados en los estratos socioeconómicos bajos en Lima Metropolitana, presentan gran contaminación microbiana.
- b) Las computadoras de cabinas públicas ubicadas en los estratos socioeconómicos bajos de Lima Metropolitana presentan diferentes tipos de contaminantes microbianos.
- c) Existen diferencias en cuanto al tipo de contaminantes microbianos en las computadoras de los estratos socioeconómicos bajos en Lima Metropolitana.

## 1.5 Variables

### 1.5.1 Variable independiente

Contaminación microbiana

### 1.5.2 Operación de las variables

VARIABLES	INDICADOR	OPERACIONALIZACION	CODIFICACION O ITEMS
Vi Condiciones Socioeconómicas			
Vd Contaminación microbiana	Limite microbiano de acuerdo a guía técnica del MINSA R.M. 7 JUNIO 2007. Anexo- R.M. N° 461-2007/MINSA	Se tomara muestras mediante el hisopado de distintas computadoras de cabinas públicas en distintos distritos de Lima	Grado de contaminación de acuerdo a la guía del MINSA < 25ufc/sup. Muestreada de coliformes totales.

			< 10ufc/sup. Muestreada de hongos.
--	--	--	--

## 1.6 Justificación e importancia

En promedio, un lugar de trabajo puede ser portador de una cantidad de gérmenes 400 veces superior a la que se puede encontrar en los asientos de los retretes.

Es importante conocer esta realidad, sobre todo para prevenir diversas enfermedades que pueden pasar inadvertidas, ya que no es tomado en cuenta al hacer un diagnóstico clínico.

Se han realizado estudios por Charles Gerba, investigador de Microbiología de la Universidad de Arizona, donde menciona que encontró una inmensa cantidad de gérmenes que pueden ser dañinos, aunque no los tipifico, es importante dar a conocer estos datos y deben ser tomados en cuenta en todos los lugares públicos y oficinas donde haya esta herramienta de trabajo.

Se sabe que los microorganismos que se propagan por los alimentos son en su mayoría Gram Negativos, perteneciente a las Enterobacterias, aunque son habitantes normales en el intestino y en ocasiones se pueden acompañar de microorganismos anaerobios.

También puede ser contaminado fácilmente por hongos, sobre todo los que causan infecciones superficiales, como *Malassezia* y otros dermatofitos.

Por ello es importante realizar este trabajo y difundirlo señalando las formas de prevención para evitar contraer dichas enfermedades.

### **1.7 Viabilidad**

El tema de investigación es viable debido a la importancia que tiene el tema de investigación, debido a que estamos en contacto permanente con una computadora sea por trabajo o por esparcimiento.

### **1.8 Limitaciones**

En la presente investigación las limitaciones fueron debido a la falta de información detallada en el contexto local y nacional, es casi nulo las investigaciones desarrollados sobre el tema, por lo que se ha tenido que recurrir a bibliografía variada.

## CAPITULO II

### II. MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Antecedentes de la investigación

##### 2.1.1 Ámbito Supranacional

Los microorganismos son seres microscópicos, están distribuidos en todo lugar, por ello son factibles de contaminaciones.

Actualmente el desarrollo tecnológico ha originado la creación de herramientas como son los celulares, computadoras, sistemas de audio y otros, que comparten su uso indiscriminado con muchas personas.

Diversas investigaciones informan que los teléfonos móviles y las computadoras de hospitales norteamericanos están infectados con diversas bacterias, incluida el *Staphylococcus aureus* METICILINA RESISTENTE (MRSA), de esta manera se convierte en un potencial de foco infeccioso hospitalario; la misma publicación refiere que investigadores de la Universidad Ondokuz Mayıs de Turquía comprobaron contaminación microbiana en los teléfonos de 200 médicos y enfermeras que trabajaban en los quirófanos y unidades de cuidados intensivos hospitalarios. El 95 por ciento de los teléfonos móviles estaban contaminados con al menos un tipo de bacteria, potencialmente capaces de causar desde leves infecciones de la piel a graves enfermedades. El 35 por ciento estaba infectado por dos bacterias y el 11 por ciento lo estaba por tres o más especies, según el estudio. Mucho más



preocupante es que en ocho de los aparatos se encontró *Staphylococcus aureus* METICILINA RESISTENTE, una cepa virulenta que se ha convertido en una importante amenaza para la salud en todos los hospitales del mundo; solamente el 10 por ciento del personal sanitario limpió con regularidad los teléfonos, si bien la mayoría siguió las directrices referentes a la higiene de las manos, según el estudio. Estos teléfonos móviles podrían actuar como un foco de infecciones que pueden transmitirse de paciente a paciente, advirtieron los autores. Muchas de estas bacterias resistentes a los medicamentos son generalmente agresivas para las personas sanas, pudiendo llegar a ser mortales para los pacientes hospitalizados. Los investigadores reconocieron que se necesitan más estudios para confirmar sus resultados, ya que el actual estudio se realizó con una muestra relativamente pequeña, pero recomendó tomar medidas para reducir el riesgo de contaminación, especialmente la limpieza frecuente de los teléfonos con desinfectantes a base de alcohol o el uso de materiales antibacterianos.

Especialistas británicos alertaron sobre el peligro de contaminación en los teclados de computadoras donde encontraron microorganismos capaces de causar desde diarreas hasta intoxicaciones que pueden ser graves.

Un análisis publicado por la revista Which Computing asegura que la mayoría de teclados de las computadoras tienen más bacterias que el

asiento de un retrete por lo que se recomienda no comer cerca de los ordenadores. La BBC informó que los investigadores analizaron treinta teclados en las oficinas de la propia revista y descubrieron bacterias capaces de causar desde diarrea hasta intoxicaciones por alimentos. Entre los microorganismos que descubrieron está la *Escherichia coli*, que puede causar gastroenteritis e infecciones de las vías urinarias, así como el *Staphylococcus aureus* vinculado a distintos tipos de infecciones, y Enterobacterias, que pueden producir envenenamiento. Para realizar una comparación examinaron también el asiento de un retrete de la misma oficina y descubrieron que estaba menos contaminado que muchos de los teclados. Los especialistas culparon de la suciedad de los teclados al hecho de que los trabajadores no tienen tiempo de sentarse a comer en otra mesa que no sea la suya y lo hacen mientras escriben en los ordenadores; es así que las migas o restos de comida caen entre las teclas y luego se proliferan bacterias. Un sondeo entre 4.000 empleados de dicha oficina indicó que uno de cada diez no limpiaba el teclado y mucho menos el 'mouse'. Los expertos recomendaron sacudir el teclado para eliminar las migas y el polvo para evitar enfermedades a futuro.

Es importante hoy día mencionar que existe una gran interacción entre los seres vivos incluyendo al hombre y su medio ambiente, la variación de las condiciones ambientales, afecta a los seres vivos, estas condiciones pueden estar refrendadas por la contaminación lo cual puede cambiar la condición de salud de las personas.

Mucho se habla de la contaminación ambiental, pero la mayor parte de la población peruana desconoce que convivimos con sustancias contaminantes. La contaminación se puede encontrar en espacios interiores y exteriores, las fuentes de contaminación provienen de las industrias, aguas, y otros

Muchas personas que tienen problemas gástricos pueden atribuirse a una infección por manipulación de computadoras sin tomar reglas de higiene, al mismo tiempo si tuvieran estos problemas recurren inmediatamente a la antibioticoterapia, lo cual es contraproducente, ya que muchos de ellos no son debido a infecciones, y aun si fuera por microorganismos contaminantes por manipulación de computadoras, no es debido tomar antibióticos, sin que se haya determinado el causante, debido a que puede haber resistencia microbiana al medicarse sin conocimiento previo.

### **2.1.2 Ámbito Nacional**

En el ámbito nacional no se han encontrado investigaciones sobre el tema

## **2.2 Bases Teóricas**

### **2.2.1 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.

### **2.2.2 Morfología**

Las bacterias poseen un tamaño medio que oscila entre 2 y 10  $\mu\text{m}$ . 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.

### **2.2.3 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 Gram positivas, cuando solo poseen peptidoglicano; o Gram negativas, 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.

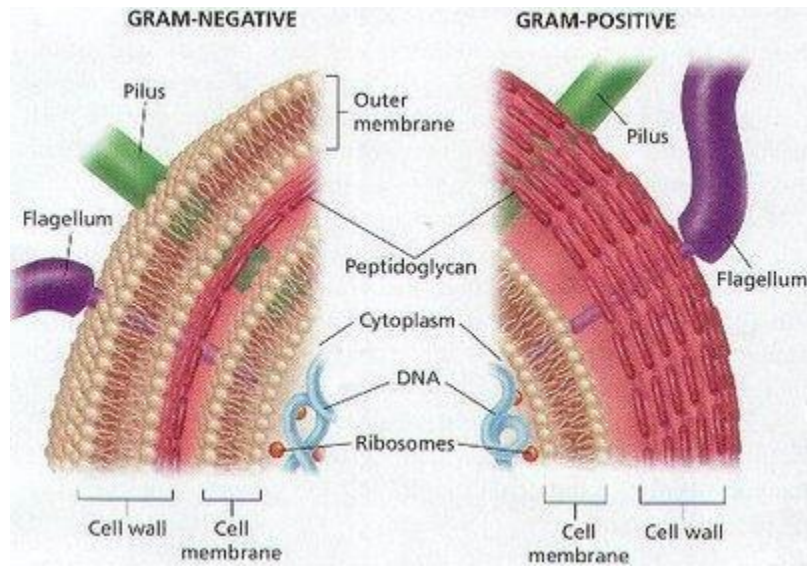


Fig. 1. Estructura de bacteria Gram positiva y gram negativa (Fuente: <http://cienciasic.blogspot.com>)

## 2.3 Género *Estafilococo*

### 2.3.1 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.

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).

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*.**

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

### 2.3.2 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)

### 2.3.3 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  $\beta$ -hemólisis alrededor de las colonias. (5)

#### **2.3.4 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)

#### **2.3.5 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)

### **2.4. CLASIFICACIÓN DE *ESTAFILOCOCOS* SEGÚN LA PRUEBA DE LA COAGULASA**

#### **2.4.1. *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,	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
<b>Fuente: (6)</b>		

#### 2.4.2. ESTAFILOCOCOS COAGULASA POSITIVA

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

#### 2.4.3. *Staphylococcus aureus*.

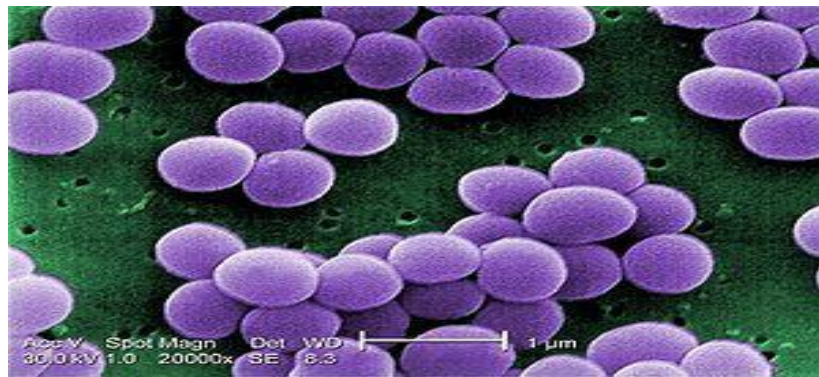


Fig. 2. Morfología de *Staphylococcus aureus* (Fuente: Mashpedia)

**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)

#### 2.4.4. 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  $\beta$  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)

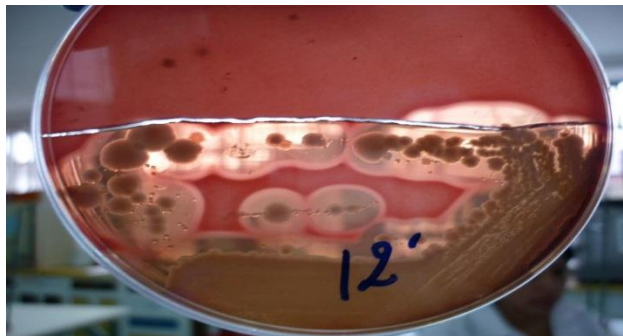


Fig. 3. Colonias pigmentadas y  $\beta$ -hemolíticas de *Staphylococcus aureus* en un medio de agar sangre

## 2.4.5. ESTRUCTURA

### 2.4.5.1. 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, 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.

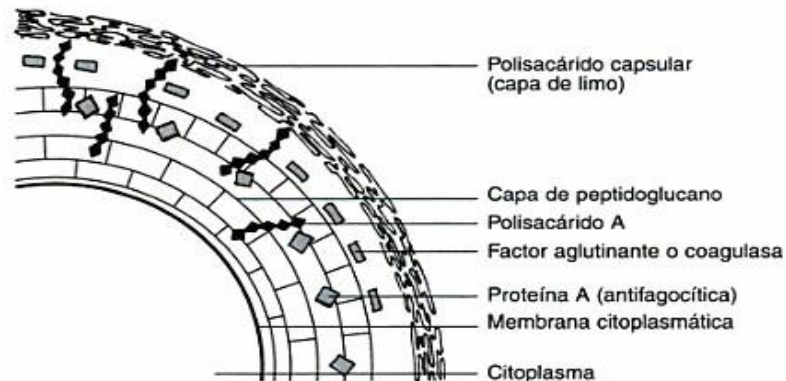


Fig. 4. Estructura de la pared de los microorganismos del género *Staphylococcus*

## 2.4.6. CARACTERÍSTICAS PATÓGENAS

### 2.4.6.1. TOXINAS

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

### 2.4.6.2. 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.

### 2.4.6.3. TOXINA DEL SÍNDROME DEL SHOCK TÓXICO (TSS-I) O TOXINA PIROGÉNICA

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

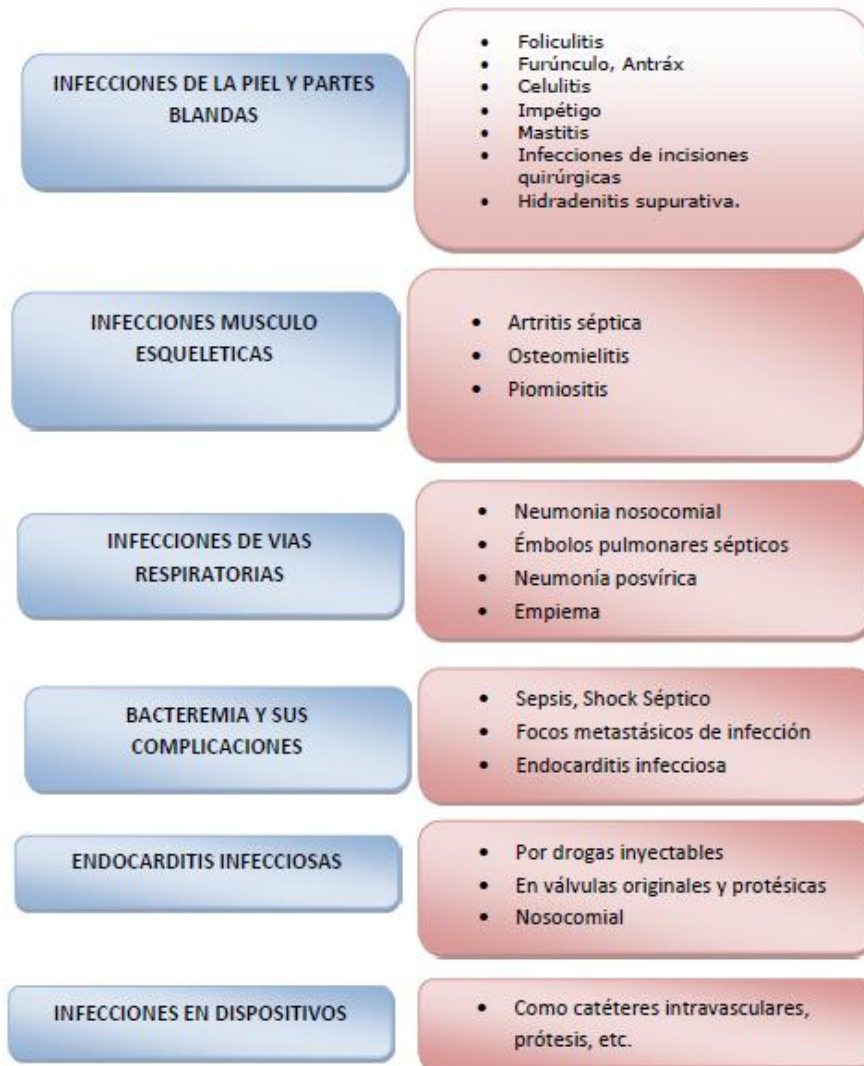
## 2.4.7. LOCALIZACIÓN, TRASMISSION Y FUENTE DE INFECCIÓN

*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)

## 2.5. ENFERMEDADES FRECUENTES CAUSADAS POR *S. AUREUS*



## 2.6. 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 meticilina 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 hacinadas, 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)

## 2.7. COLIFORMES

### 2.7.1. 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)

### 2.7.2. 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)

### 2.7.3. COLIFORME

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



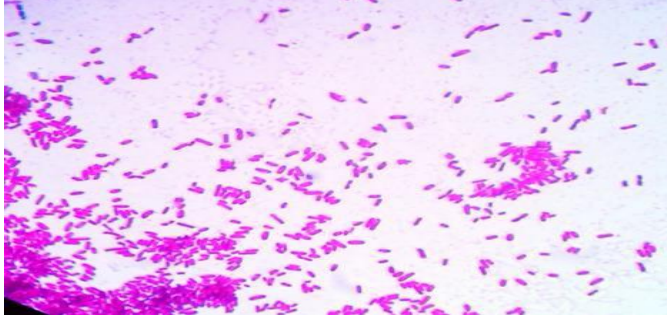


Fig. 5. Morfología de bacilos Gram Negativos

## 2.7.4. COLIFORMES TOTALES Y COLIFORMES FECALES

### 2.7.4.1. 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)

### 2.7.4.2. COLIFORME FECAL

Las bacterias coliformes fecales forman parte del total del grupo coliformes. 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 coliformes 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.	
<b>Reino:</b>	Bacteria
<b>Filo:</b>	Proteobacteria
<b>Clase:</b>	Gamma Proteobacteria
<b>Orden:</b>	Enterobacterias
<b>Familia:</b>	Enterobacteriaceae
<b>Fuente: (13)</b>	

TABLA 4: Géneros pertenecientes a *Coliformes*

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

Se los llama coliformes aquellas bacterias que cumplen los siguientes requisitos bioquímicos aerobios o anaerobios facultativos, 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.

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.

Como causa de alteración de los alimentos.

Como agentes etiológicos de enteritis. (16)

## 2.8. 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	Bacterias Gram negativos 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>
Piel y tejidos	<i>Serratia</i>
Aparato	<i>Klebsiella, Enterobacter, Serratia</i>
<b>Fuente: (17)</b>	

*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)

### 2.8.1. *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: tuespacioyelmio.com)

### 2.8.2. *Klebsiella*

El género *Klebsiella* está constituido por *K. pneumoniae* (el patógeno principal), *K. oxytoca* y *K. granulomatis*. *K. ozaenae* y *K. rhinoscleromatis* son 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)

### **2.8.3. *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)

### **2.8.4. *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 H<sub>2</sub>S 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)

## **2.9. DESCRIPCIÓN DEL LUGAR DE INVESTIGACIÓN**

### **2.9.1. Lugar de investigación**

El lugar de investigación fueron los distritos de Villa María, Puente piedra y San Borja, en los teclados de las computadoras de las cabinas públicas de acceso a la población

Puente Piedra - El 14 de febrero de 1925, el presidente Augusto B. Leguía dictara la Ley 5675 que crea al Distrito de Puente Piedra, fijando sus límites y designa a Juan Lecaros como su primer Alcalde y a Manuel Gonzales, Gregorio Quiroz, Luis Montemayor y Eloy Nunez como primeros regidores. De esta forma, el antiguo distrito de Carabayllo pierde así su más importante caserío, la franja marítima de Ventanilla, la estación del tren, el ingenio azucarero y varias haciendas.

El distrito fue fundado el 14 de febrero de 1925 mediante Ley N° 5675. Tiene una extensión de 71,18 kilómetros cuadrados y una población

estimada superior a los 200,000 habitantes. Puente Piedra ubicado en la zona norte de Lima, Un nuevo eje de desarrollo comercial en Lima Norte se viene gestando desde hace algunos años en el distrito de Puente Piedra donde actualmente el comercio crece aceleradamente. Puente Piedra se está convirtiendo en el nuevo polo de inversiones en el sector industrial y comercial en el Cono Norte de Lima. Luego del 'boom' de inversiones privadas en Independencia, Los Olivos y Comas, se suma ahora el distrito de Puente Piedra. Que está listo a ser redescubierto como sociedad, atractivo turístico y oportunidad comercial que se proyecta y va en camino a ser uno de los distritos con mayor desarrollo del cono norte de Lima.

Posteriormente hasta la década de los 60's se funda en la parte occidental la ciudad Satélite de Ventanilla, la que finalmente en el gobierno militar en 1969 se crea el Distrito de Ventanilla y a la vez comprendido dentro de la Provincia Constitucional del Callao, perdiéndose más de la mitad de su territorio inicial. (25)

San Borja- San Borja es uno de los 43 distritos que conforman la provincia de Lima. Limita al norte con San Luis, La Victoria y Ate, al este con Santiago de Surco, al sur con Surquillo y al oeste con San Isidro.

En la etapa del Intermedio Tardío, aproximadamente entre los años 1100 y 1450 d. C. el territorio de San Borja era parte del señorío Ichma, unidad política que administraba la región Lima ante la llegada de los incas al lugar.

Dicho señorío floreció en la costa central de Lima, y abarcó los valles bajos de las cuencas del río Rímac y Lurín, siendo gobernada desde el centro religioso de *Pachakamaq*.

Durante el período inca, este señorío creció en población y producción. En ese tiempo, se construyeron unas 17 huacas, siendo ella la razón que hizo de los Ichma, una cultura de gran prestigio.

Cuando los españoles fundaron Lima dieron estas tierras al conquistador “Antonio Picardo”, secretario de Francisco Pizarro. Luego, este territorio pasó a ser propiedad de los jesuitas hasta que fueron expulsados por orden del rey de España.

En el año 1962, los parroquianos vendieron el terreno para la construcción de una parroquia y un colegio. En ese entonces, todo ese territorio pertenecía al distrito de Surquillo.

El 01 de junio de 1983, durante la segunda etapa en la presidencia de Fernando Belaúnde, se dispuso por Ley N° 23604 la creación del distrito de San Borja y la separación de Surquillo. En este Distrito abunda la población de clase media a alta en un 60% (26)



Villa El Salvador- El Distrito fue creado mediante Ley No. 23605 de fecha 1 de junio de 1983, en el segundo gobierno del Presidente Fernando Belaúnde Terry, siendo elegido como primer alcalde Miguel Azcueta Gorostiza quien junto con la comunidad, llevó adelante el segundo plan de desarrollo de Villa El Salvador que tuvo varios ejes: El desarrollo urbano, productivo y social que contó con la participación de los propios pobladores y sus organizaciones, especialmente la CUAVES, la FEPOMUVES, APEMIVES y grupos culturales con ideas innovadoras como el presupuesto participativo que nace en Villa El Salvador , a través de las relaciones políticas de Izquierda Unida del Perú con el Partido de los Trabajadores llega a Brasil y se extiende por América Latina. Dos años después , Villa El Salvador fue conocido por el mundo con la llegada del Papa Juan Pablo II, su presencia en el distrito convocó a más de un millón de fieles que esperaron desde la noche anterior para darle la bienvenida en los arenales, donde hoy se ubica el Parque Industrial y un monumento llamado la Piedra del Papa que fue construido por los mismos pobladores en honor a su nombre. En 1987 Villa El Salvador recibe el Premio Príncipe de Asturias a la Concordia y por su posición de defensa de la paz con justicia social. Ese mismo año, las Naciones Unidas la declara al distrito como "CIUDAD MENSAJERA DE LA PAZ". Esta defensa de la paz, hace que el grupo terrorista Sendero Luminoso inicie su violencia y terror en Villa El Salvador, especialmente, en los años 1990 a 1993, asesinando a policías y dirigentes como el Mayor Comisario Percovich Rolando Galindo

y la Teniente Alcaldesa María Elena Moyano, asesinada cruelmente el 15 de febrero de 1992, cuyo homicidio repudiado masivamente a nivel nacional e internacional, es considerado el inicio del fin de Sendero Luminoso. El 16 de junio de 1993 Sendero Luminoso atenta contra el ex alcalde Michel Azcueta. Posteriormente María Elena Moyano fue proclamada Heroína Nacional por el Congreso de la República del Perú.

Se considera un distrito con prevalencia de provincianos emprendedores y en sus inicios había personas económicamente de nivel bajo, que hasta ahora persiste. (27)

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)

### 2.9.2. 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 sean utilizados frecuentemente por el público, estudiantes, trabajadores y toda persona en general.

El mal uso de las computadoras en las cabinas, así como la permisibilidad del ingreso con alimentos ocasiona derrames de bebidas, desechos alimenticios, también 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. Teclado de computadora*

### 2.10. Definiciones conceptuales.

**Agar Mac Conkey:** medio de cultivo para la recuperación de enterobacterias, las bacterias positivas se observan como colonias

coloreadas intensamente (coliformes) y la lactosa negativa, colonias incoloras (salmonella, Shigella)

**Carga bacteriana:** Cantidad de bacterias ubicadas en el organismo, sea piel, animales etc.

**Coliformes:** bacterias gram negativas, son lactosa positivas. Son utilizados como indicadores de contaminación fecal de agua y alimentos reciente por su facilidad de detectar y por estar asociado a patógenos intestinales.

**Contaminación:** Es la acción y efecto de contaminar o contaminarse, acción de volver algo dañino o inapropiado, como por la presencia de sustancias radioactivas, microorganismos patógenos etc.

**Contaminante:** Es la impureza, cualquier material de naturaleza extraña asociada con una sustancia química, o un principio fisiológico, o agente infeccioso compuesto indeseable que produce contaminación.

**Enterobacterias:** bacilos gramnegativos, comprende bacterias patógenas más comunes junto a los estafilococos y estreptococos. Crecen bien en medios de cultivo como el Mac Conkey, diferenciándose en fermentadores de lactosa como los coliformes, y los no fermentadores de lactosa están los patógenos como Salmonella y Shigella.

**Indicador De Contaminación Fecal:** Los microorganismos como los coliformes, Enterococcus etc., que se utilizan en el control de calidad de agua y alimentos en razón que en dichos medios son más resistentes que los patógenos intestinales y su origen es fecal. Su número es proporcional al grado de contaminación fecal, por tanto al riesgo para la salud.

**Grado De Contaminación:** nivel de bacterias determinadas en bajo, mediano bajo, mediano y alto, de acuerdo al rango de unidades formadoras de colonias.

**Salmonella:** Son bacterias patógenas para el hombre y los animales, cuando se adquieren por vías bucales, se transmiten a los animales y los productos de éstos hacia el hombre. Son móviles y crecen con facilidad en medios de cultivo, dan colonias circulares y transparentes, son lactosa negativa.

**Shigella:** Es habitual en las vías intestinales del hombre y otras fuentes, son bastoncillos gramnegativos delgados, las colonias son convexas, circulares y transparentes, alcanzan 2mm en 24 horas. Son lactosa negativos.

**Recuento bacteriano:** Enumeración cuantitativa de bacterias o suma de ellas.

**Unidad formadora de colonias:** Es el resultado del crecimiento de una célula sobre un sustrato sólido en un tiempo determinado.

**Utensilio:** Cualquier objeto manual de uso frecuente. En el presente estudios consideró la cuchara.

## **CAPITULO III**

### **III. MARCO METODOLOGICO**

#### **3.1 Tipo de Investigación**

Descriptivo-prospectivo

#### **3.2 Metodología de trabajo**

El análisis se realizó durante los meses de Abril a Junio del año 2017 en el laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, la primera parte y luego en tres laboratorios particulares conforme el plan de actividades detallado en el anexo 1.

Se siguió la técnica de DIGESA, según R.M. 461-2007/MINSA, anexo 2

#### **3.3 Diseño y esquema de la investigación**

Planteamiento del diseño: No Experimental

#### **3.4 Población y muestra**

La investigación se realizó en los teclados de las computadoras ubicadas en tres distritos de nivel socio-económicos diferenciados de Lima Metropolitana. Según técnicas de selección de distritos publicados por el INEI. Se seleccionarán tres distritos de nivel socio económicos distintos (1 de nivel alto, 1 de nivel medio y 1 de nivel bajo) como son Villa María del Triunfo, Puente Piedra y San Borja.

Los teclados utilizados dentro de las instalaciones de las 6 cabinas de internet son en general de plástico resistente, con las especificaciones de un teclado LOGITECH 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.

Se escogió 6 cabinas de internet en los tres distritos mencionados con la toma de muestras de un total de 61 propuestas para el análisis.

Tabla 6. Número de computadoras por cada cabina.

Cabina	Distrito	Número de teclados
Cabina 1	Villa María del Triunfo	14
Cabina 2	Villa María del Triunfo	14
Cabina 3	Puente Piedra	14
Cabina 4	Puente Piedra	4
Cabina 5	San Borja	8
Cabina 6	San Borja	7

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, agar MacConkey y agar EMB



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

<b>Numeracion</b>	<b>Total de análisis</b>	<b>Semanas</b>
<b>Cabina 1</b>	7	<b>I</b>
	7	
<b>Cabina 2</b>	7	<b>II</b>
	7	
<b>Cabina 3</b>	7	<b>III</b>
	7	
<b>Cabina 4</b>	2	<b>IV</b>
	2	
<b>Cabina 5</b>	4	<b>V</b>
	4	
<b>Cabina 6</b>	4	<b>VI</b>
	3	
<b>Total</b>	<b>61</b>	
<b>Fuente: Elaboración propia.</b>		

### 3.5 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 2)

### 3.6 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 de las cabinas de internet, según técnica MINSA (R.M. 7 JUNIO 2007. Anexo- R.M. N° 461-2007/MINSA) se coloca una hoja que hace un espacio para hisopar de 10cm x 10cm x 10cm. 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*.(ANEXO 5)

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

### **3.6.1 Solución salina esteril**

Para la preparación 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)

### **3.6.2 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 3)

### **3.6.3 Técnica para 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, dentro del papel reglamentado. 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.

### **3.7 Técnica para el cultivo**

#### **3.7.1 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 tripticasa 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. En Agar Mac Conkey y Agar EMB.

Las siembras se realizaron por triplicado.

#### **3.7.2 Incubación**

Se incubó en incubadora durante 18-24 h a 35°C-37°C en condiciones de aerobiosis.

#### **3.7.3 Interpretación**

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

### 3.7.3.1 En Agar Sangre

Si aparecen colonias redondas, lisas, convexas, blancas, a las 24 horas pueden desarrollar un pigmento amarillo y  $\beta$  hemólisis a las 48 horas se consideró presuntiva de *S. aureus*.



Fig. 8 hemólisis en agar sangre

### 3.7.3.2 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

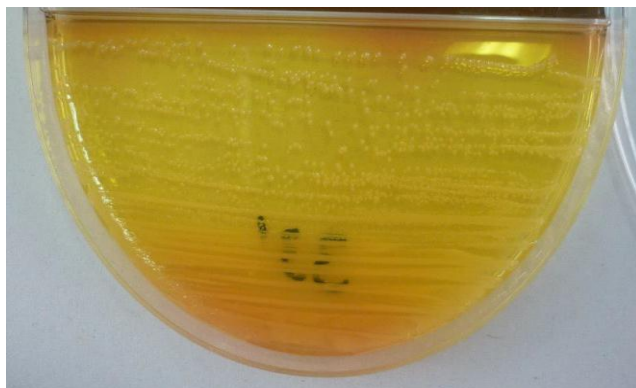


Fig. 9. Colonias *S. aureus* [Agar Manitol]

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

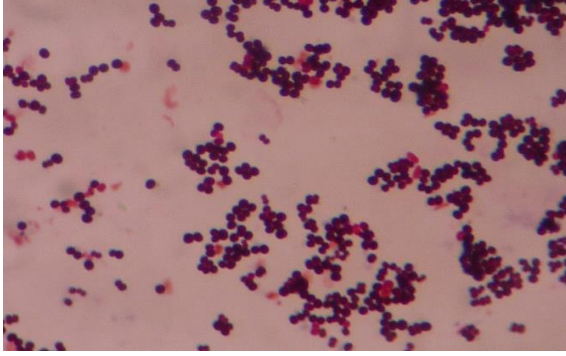


Fig. 10. Cocos Gram Positivos [Tinción Gram]

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]

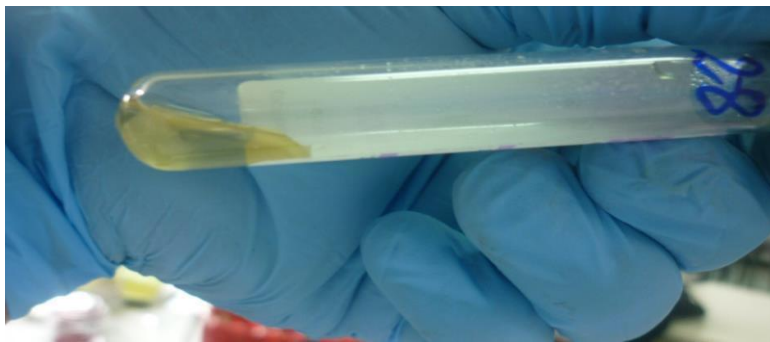


Fig. 12. Prueba de la coagulasa [coagulasa positiva]

### 3.8 Técnicas para cultivo de coliformes

Una vez tomada la muestra con el hisopo se procedió a sembrar la muestra en las placas con Agar Mac Conkey y Agar EMB.

#### 3.8.1 Inoculación

Se colocó la placa de agar Mac Conkey y 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 tripticasa soya durante 4 horas.

(28)

#### 3.8.2 Incubación

De 24 a 48 horas a 35-37 °C, en aerobiosis tanto para agar EMB como para Agar Mac Conkey.

#### 3.8.3 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.

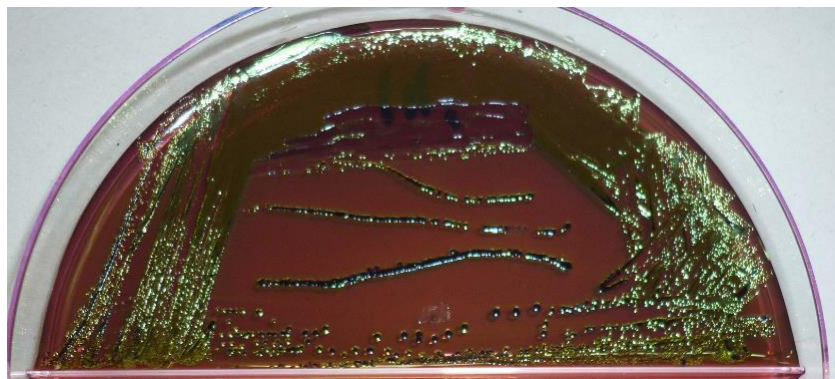
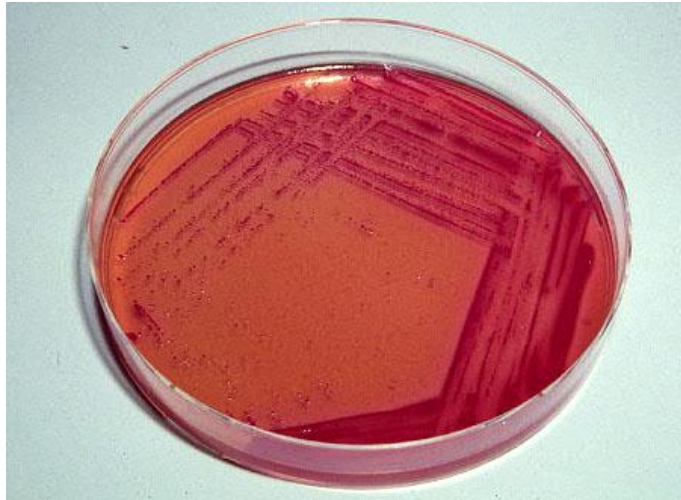


Fig. 13. Colonias con brillo metálico [Agar EMB]



En Agar Mac Conkey, las colonias rosadas son de bacterias lactosa +, donde están *Escherichia coli*, *Enterobacter* y *Klebsiella*, las colonias blanquecinas serían de bacterias lactosa -, en este grupo estarían *Salmonella*, *Proteus* y *Shigella*

#### **3.8.4 Prueba primaria 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.



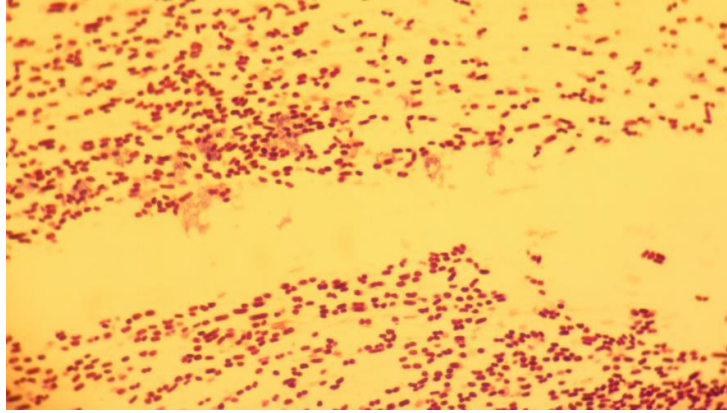
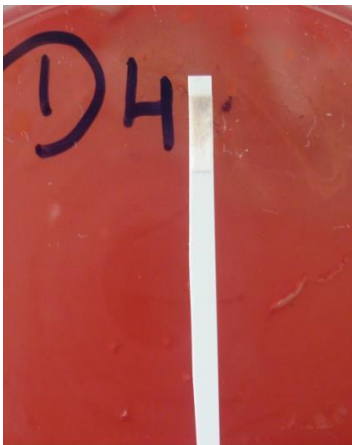


Fig. 14. Bacilos Gram Negativos [Tinción Gram]

b). Una vez realizado la tinción 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

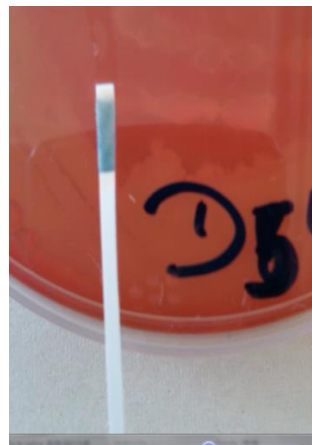


Fig. 15. A: Prueba oxidasa negativa. B: Prueba de oxidasa positiva.

[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.

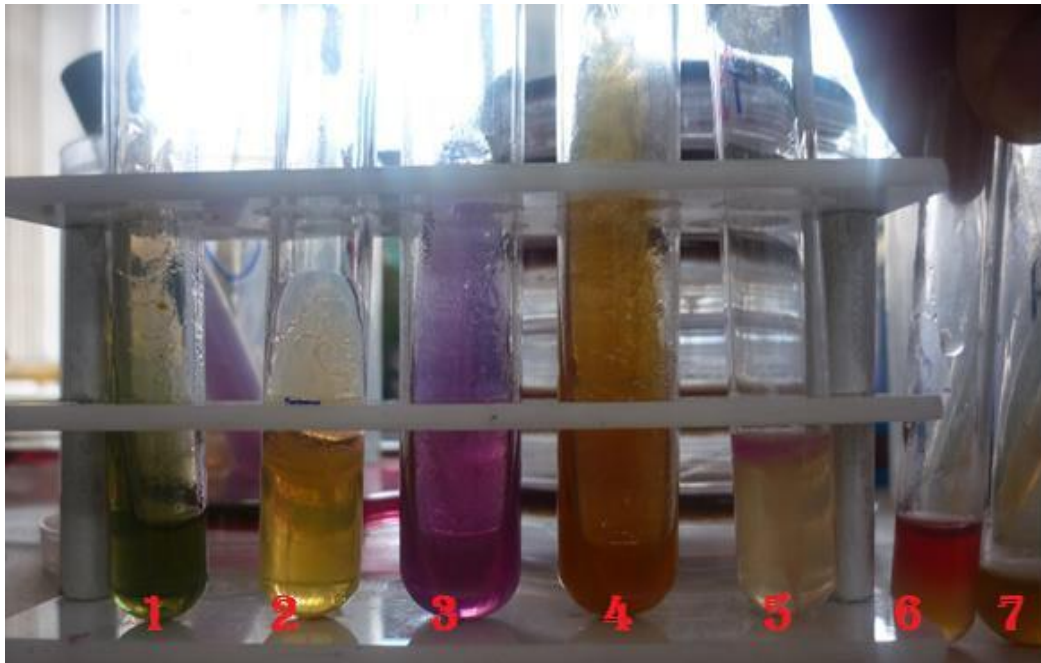


Fig. 16. Pruebas bioquímicas [E. coli]

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	<b><i>Escherichia coli</i></b>
2	UREA		Negativo	No se evidencio la presencia de ureasa, amarillo.	
3	LIA		k/k	<b>K/K:</b> Si hay descarboxilación de lisina, no se evidencio desaminación	
4	KLIGER		A/A +/-	<b>A/A:</b> Fermentación de la lactosa y glucosa y H <sub>2</sub> S	
5	SIM	H <sub>2</sub> S	Negativo	No hay ennegrecimiento del medio	
		Indol	Positivo	Halo rojo-fucsina después de añadir el reactivo de Kovac`s o Elrich indica presencia de indol.	
		Motilidad	Positivo	Turbidez	
6-7	RMV P	Rojo de Metilo	Positivo	Coloración rojo brillante del medio indica producción de ácido con pH < 4.5	
		Voge		Color	

### **3.9 Medios de cultivo diferenciales**

#### **3.9.1 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.

#### **3.9.2 Caldo tripticasa de 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.

**3.9.3 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.

- 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  $7.3 \pm 0.2$

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  $121^{\circ}\text{C}$  (15 libras de presión). Enfriar a una temperatura entre  $45\text{-}50^{\circ}\text{C}$  y añadir, de preferencia, sangre de carnero estéril y desfibrinada al 5%. Homogeneizar y vaciar en placas Petri estériles.

#### **3.9.4 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. (29)

- 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  $7.4 \pm 0.2$

#### 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.

#### **3.9.5 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 coliformes 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. (30)

- 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  $7.2 \pm 0.2$

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  $121^{\circ}\text{C}$  (15 libras de presión) durante 15 minutos. Dejar enfriar a una temperatura entre  $45\text{-}50^{\circ}\text{C}$  y vaciar en placas de Petri estériles.



### 3.9.6. Agar Mac Conkey

El agar Mac Conkey es un medio de cultivo selectivo y diferencial para bacterias, diseñado para aislar selectivamente bacilos Gram negativos y entéricos (encontrados normalmente en el tracto intestinal) y diferenciarlos sobre la base de la fermentación de la lactosa. El cristal violeta y las sales biliares inhiben el crecimiento de organismos Gram positivos, lo que permite la selección y el aislamiento de bacterias gram negativas. Las bacterias entéricas que tienen la habilidad de fermentar lactosa pueden ser detectadas utilizando el carbohidrato lactosa y el indicador de pH rojo neutro.

PREPARACION: Rehidratar 50 g del medio en un litro de agua destilada. Reposar 10 a 15 minutos. Calentar agitando frecuentemente hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para disolverlo por completo. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 lb de presión) durante 15 minutos. Enfriar aproximadamente a 45°C. Vaciar en cajas de Petri estériles. Conservar en refrigeración de 2 a 8°C.

### 3.9.7. 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.

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  $6.9 \pm 0.2$

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.

### **3.9.8. Agar Urea**

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 amoníaco.

Tripteina 1.0g

Glucosa 1.0g

Cloruro de sodio 5.0g

Fosfato monopotásico 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.

### **3.9.9. Agar Lía (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 hidrocloreto 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 H<sub>2</sub>S. El púrpura de bromocresol es un indicador de pH y el agar es adicionado como agente solidificante.

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.

### **3.9.10. Agar Kliger**

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.

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.

### **3.9.11. 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.

Tripteina 20.0g

Peptona 6.1g

Sulfato de Hierro y Amonio 0.2g

Tiosulfato de sodio 0.2g

Agar 3.5g

□ pH  $7.3 \pm 0.2$

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)

### **3.9.12. 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.

Mezcla de Peptonas 7.0

Dextrosa 5.0

Fosfato de Potasio 5.0

pH  $6.9 \pm 0.2$

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.

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
VP	Color Rojo	El medio no cambia
Fuente: (27)		

### 3.10. 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.

## CAPITULO IV

### 4. RESULTADOS

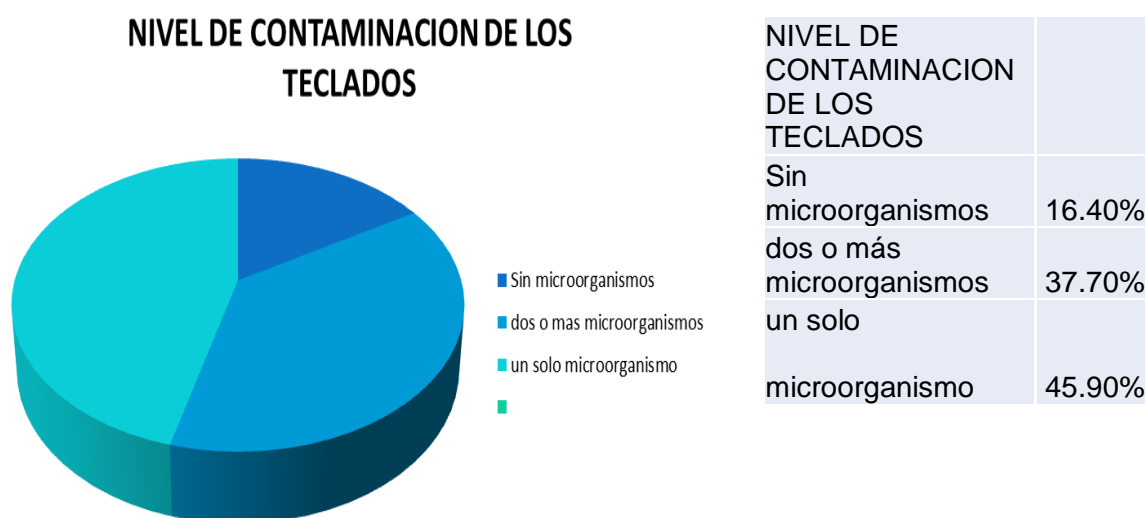
#### 4.1. CONTAMINACION MICROBIANA

##### 4.1.1 Nivel de Contaminación Microbiana

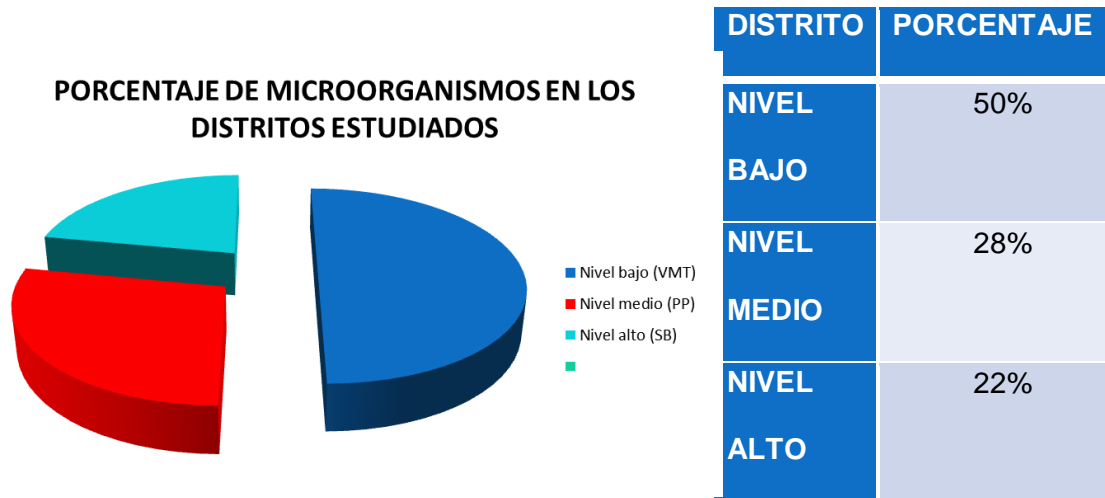
La cantidad de posibles microorganismos patógenos abarcó un total de 61 teclados de las computadoras de las cabinas de internet. Al mismo tiempo la mayor parte de las computadoras eran compartidas por estudiantes, trabajadores y público en general.

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).

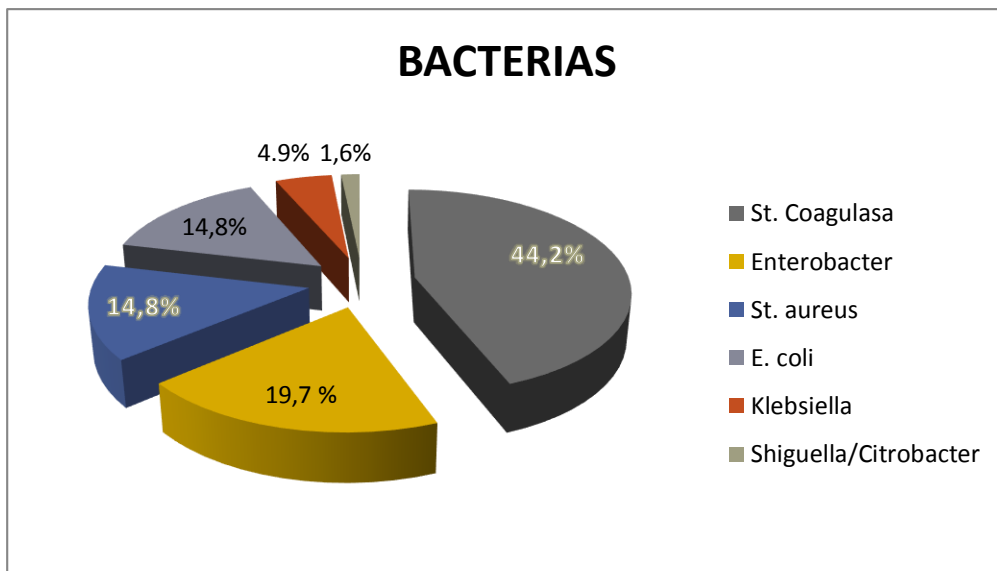
**Gráfico 1. Nivel de contaminación microbiológica en los teclados de estudio.**



**GRAFICO 2. PORCENTAJE DE MICROORGANISMOS EN LOS DISTRITOS ESTUDIADOS**



**GRAFICO N° 3 PORCENTAJE DE MICROORGANISMOS ENCONTRADOS EN LOS TECLADOS**



Las computadoras representan actualmente uno de los equipos electrónicos de mayor uso en la población tanto para estudios, trabajo, diversión, etc., y se usa diariamente debido a los costos elevados para adquirir uno de ellos y más todavía para contactar un servicio de internet, los costos hacen que la población recurra a las cabinas públicas de Lima y aumenta el hacinamiento lo cual hace posible la rápida contaminación incrementado por la falta de higiene y malos hábitos higiénicos. Por ello no es de extrañar la elevada contaminación de los teclados de estas máquinas por contacto directo con el personal que las utiliza.

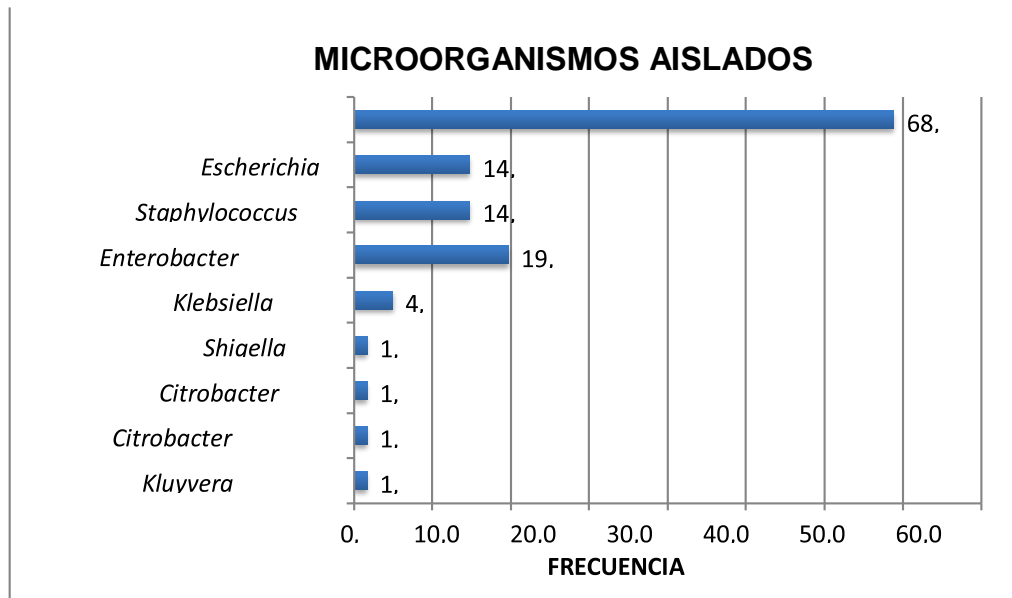
La afirmación anterior tiene también sus bases en estudios previos realizados principalmente en hospitales, los que sugieren que la frecuencia de contaminación bacteriana puede ser tan alta como para afectar el 100 % de los teclados de las computadoras así como a los teléfonos celulares, aún en sistemas 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; Harmann 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.

#### 4.1.2. 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 4. Microorganismos potencialmente patógenos detectados en los teclados de las cabinas de internet**



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

Algunos de estos se resumen en la tabla 11.

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

<b>Autores</b>		<b>Lugar</b>	<b>Microorganismos</b>
Chimezie et al. 2013		Cyber Cafés y laboratorios múltiples	<i>Staphylococcus sp.</i> <i>Bacillus sp.</i>
Chukwudi et al 2013		Cyber Cafés y laboratorios múltiples	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus sp.</i>
Ashgar and El-Said 2012		Computadoras de siete lugares públicos de la	<i>Staphylococcus aureus</i>
Enemour et al. 2012		Centros de cómputo y Cyber Cafés de la <i>Kogi</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

Nwankiti et al. 2012		Cyber Café del <i>National</i> <i>Veterinary</i> <i>Research Institute,</i>	<i>Bacillus</i> <i>sp.</i> <i>Escherichia</i> <i>coli</i> <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>
Kumar and Srivastava 2012		Laboratorios de cómputo del <i>Himachal</i> <i>Group Institute, India.</i>	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> <i>Staphylococcus</i>
Chairman et al. 2011		Salas de cómputo, <i>M.S. University,</i> India.	<i>Escherichia</i> <i>coli</i> <i>Salmonella</i> <i>typhi</i> <i>Klebsiella</i>
Anderson and Palombo		Laboratorios de cómputo de usos múltiples. <i>Hawthorn</i>	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> <i>Enterobacteriaceae</i>

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.

#### **4.2. CONTAMINACIÓN MICROBIANA Y LOCALIZACIÓN DE LAS COMPUTADORAS**

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.

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).

#### 4.3. NIVEL DE ACCESO DE LAS COMPUTADORAS

Los centros donde se encuentran las cabinas públicas son en su mayoría con faltas de higiene, se puede diferenciar aquellas que se usan para todo público y aquellas que se usan en centros de estudio, donde hay estudiantes y trabajadores

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 public	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.

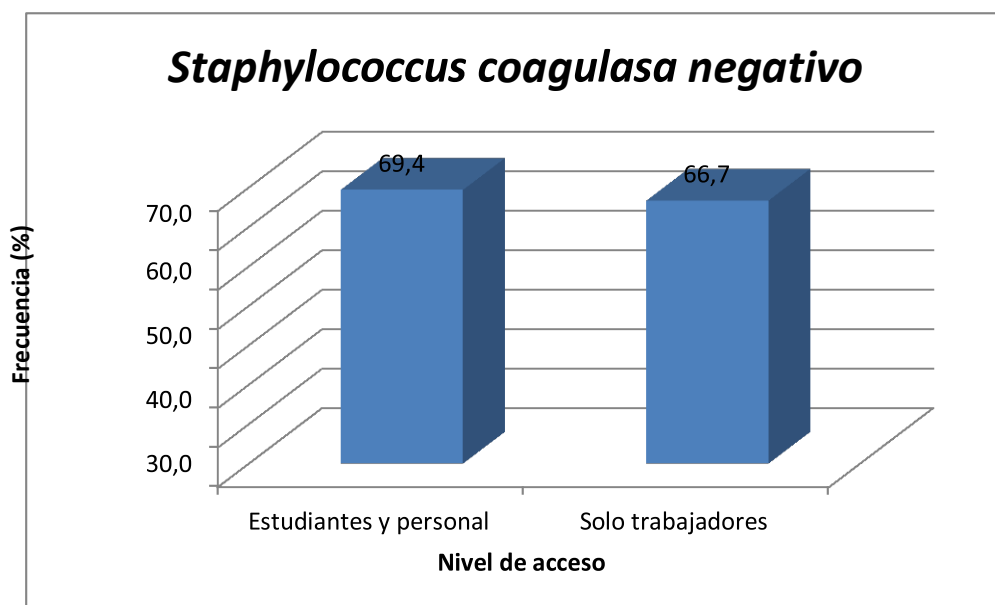
Estos resultados coinciden en parte con los presentados por otros autores, los que plantean que el nivel de acceso a las computadoras determina estrechamente no solo la frecuencia de contaminación sino además el tipo de microorganismo presente (Nwankiti et al., 2012; Chairman et al., 2011; Anderson et 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.

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

El gráfico 5 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 5. Frecuencia relativa de *Staphylococcus* coagulasa negativa entre los teclados empleados por estudiantes o personal general y aquellos exclusivamente de los trabajadores (P = 0,5545).**



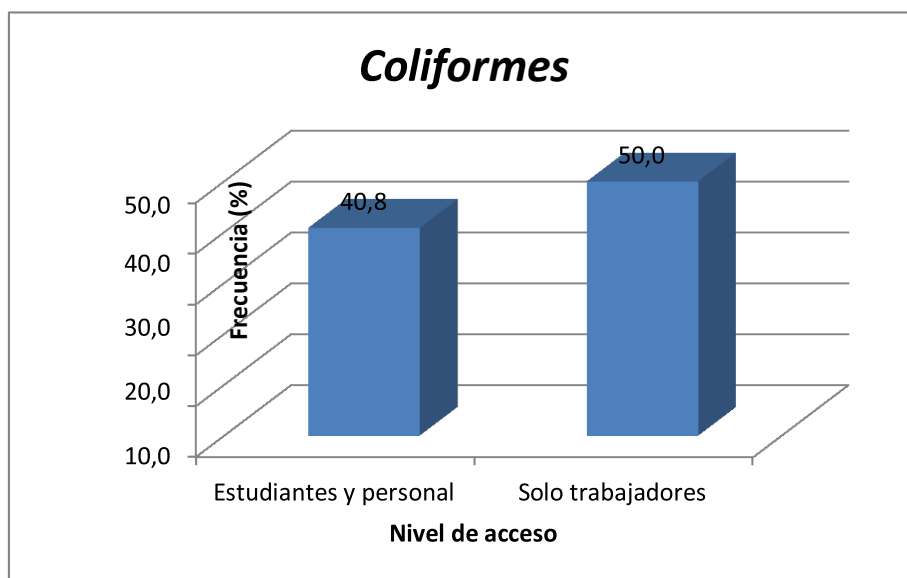
En cualquiera de los casos, la frecuencia de *Staphylococcus coagulasa* negativa es elevada en comparación a otro estudio similar realizado en Nigeria, en el que se reporta una contaminación por estos microorganismos de tan solo el 4 % de los teclados (Nwankiti et al., 2012). Estas discrepancias pueden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

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



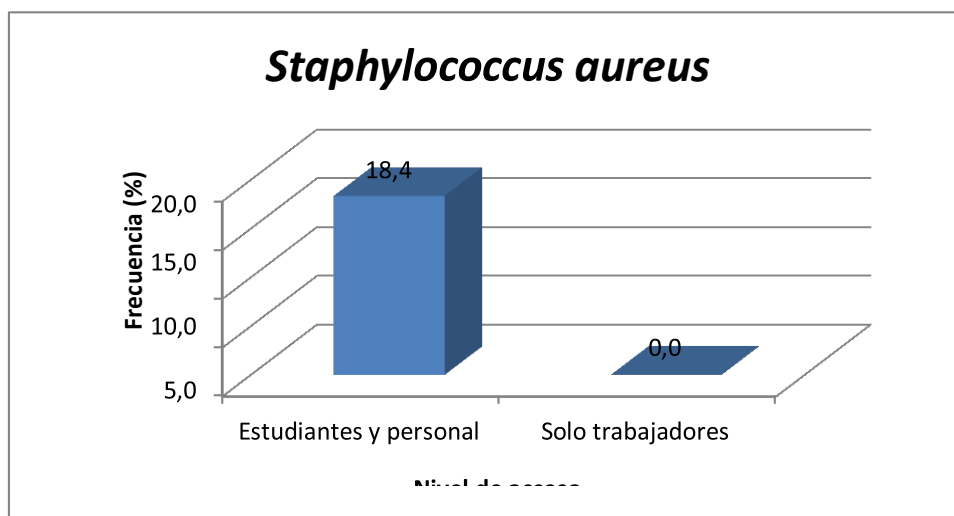
Las investigaciones realizadas en este campo indican presencia de coliformes, especialmente *E. coli*, inferior al 20 % en las computadoras, según Nwankiti et al. (2012). Por su parte, Anderson et al. (2011) indican asimismo que las enterobacterias se pueden aislar con una frecuencia menor al 20 %. En 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.

#### 4.3.3. 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 7).

**Gráfico 7. 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 las cabinas de internet investigada. Es de notar que en este caso y con la información recopilada hasta el momento, la elevada tasa de contaminación podría ser producto tanto de una mala higiene del personal, como de una escasa limpieza de las computadoras.



## CAPITULO V

### 5- DISCUSIÓN DE RESULTADOS

#### 5.1 Discusión y comparación de resultados

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 las cabinas de internet investigada. Es de notar que en este caso y con la información recopilada hasta el momento, la elevada tasa de contaminación podría ser producto tanto de una mala higiene del personal, como de una escasa limpieza de las computadoras, además de los malos hábitos de higiene, asimismo por el riesgo que corren los usuarios debido a la falta de información sobre la contaminación microbiana en computadoras.

Según los resultados obtenidos son semejantes a los que tenemos como datos de las investigaciones pasadas en otros países y en diferentes lugares, por ello, se deben considerar esos resultados como parte de procesos de

prevención, los números de resultados resultan corroborados en este trabajo realizado

## **5.2 Aporte científico de la investigación**

La investigación realizada permitirá brindar aportes en lo referente a la limpieza adecuada de equipos de uso público como son los teclados de las cabinas de internet, toda vez que los usuarios pasan por desapercibido este aspecto de primordial cuidado de la salud pública, los resultados han demostrado que el índice de contaminación es amplio por lo que permitirá tomar acciones preventivas a las instituciones involucradas.

## CONCLUSIONES.

1. En los teclados estudiados de las cabinas de internet de los distritos de Villa María del Triunfo, San Borja y Puente Piedra durante el periodo de abril a junio del 2017, la diferencia de contaminación encontrado en mayor cantidad en Villa María del Triunfo, podría indicar que el nivel socioeconómico influye en la mayor contaminación debido al porcentaje mayor, y relacionarlo con la infraestructura, limpieza, mayor cuidado por parte del propietario y personal o del mismo cliente, sin embargo se deben realizar más trabajos para tener mejor aseveración.
2. La localización y el nivel de acceso en general pudieran estar asociados a la frecuencia de los microorganismos presentes en las computadoras. se detectó una gran variedad de microorganismos potencialmente patógenos, siendo los más frecuentes *Staphylococcus coagulasa negativo* (44.2%) y coliformes (55,8%).dentro de los coliformes destaca *Emterobacter* (19.7%), *Escherichia coli* (14.8%) y *Klebsiella* (4.9%)
3. Los microorganismo encontrados representan un peligro latente en todos estos lugares debido a los microorganismo encontrados que causan diversas enfermedades, algunas con riesgo directo, como la *Escherichia coli*, que tiene 7 variedades que ocasionan mucho daño, la shihelosis que causa enterocolitis muy severa, asimismo el *Staphylococcus* que puede causar enfermedades en la piel y hasta neumonía, por ello se debe conocer los peligros de la contaminación al usar computadoras e cabinas públicas.

## RECOMENDACIONES

- 1- Concientizar a la población sobre el peligro de la contaminación de los teclados de computadoras y la limpieza de todo el lugar, asimismo más información en medios de comunicación sobre normas de higiene al usar computadores públicas y también privadas
- 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.
- 3- 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 las cabinas de internet.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1- Ulger F, Esen S, Dilek A, Yanik K, Gunaydin M, Leblebicioglu H. Are we aware how contaminated our mobile phones with nosocomial pathogens? *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2009 Mar 6;8:7. doi: 10.1186/1476-0711-8-7.
- 2-Courault, G., 2008, El Universal, (actualizado 02 noviembre 2013; citado 4 dic. 2009) <http://axxon.com.ar/not/185/c-1853047.htm>
- 2- La cronica viva2008, Teclados de las computadoras más contaminados que un retrete, 01/05/2008, (disponible 14 Enero 2010)) <http://www.cronicaviva.com.pe/content/view/38963/34/>
- 4-Rodríguez-Morales A. *Rev. Perú Med. Exp. Salud Pública.* 2005; 22(1): 54-63.
- 5-Chung B. Control de los contaminantes químicos en el Perú. *Rev. Perú Med. Exp. Salud Pública.* 2008; 25(4): 413-18.
- 6-Arias. I., Meza. A., Resistencia antimicrobiana de *Salmonella*, *Shiguela* y *Vibrio Cholerae*, Perú 1997-2002. *Rev. Perú Med. Exp. Salud Pública.* 2004; 21(4): 273-275.
- 7-Adams M.R., Moss M.O., *Microbiología de los alimentos.* 1ª. Edición, Zaragoza. Ed. Acribia; 2005
- 8-Rivera A, Chávez E, Rendón G, Giono S. Viabilidad de *Escherichia coli* en presencia de diferentes contaminantes. *Rev. Perú Med. Exp. Salud Pública.* 2006; 23(2): 110-113.

- 9-Los elementos más sucios de la oficina, (actualizado 02 de Noviembre 2013; citado 14 Enero 2010) <http://www.maclatino.com/los-elementos-mas-sucios-de-la-oficina>,
- 10-Madigan. M. T, Markinto. J. M, Parker. J, Brock Biología de los microorganismos. 8ª edición. Madrid España, Ed. Pearson Educación; 2006
- 11-Transmedic, S.A., Microbiología 1990-2000. 1º Ed. Av. Las Artes Norte 310-San Borja (p.32)
- 12-Afirman que celulares pueden propagar microbios en hospitales, Marzo 2009,<http://peru21.pe/noticia/255278/afirman-que-celulares-pueden-propagar-microbios-hospitales>. (disponible 11 Diciembre 2013)
- 13-Bacterias invaden los teclados,  
<http://www.maestrosdelweb.com/actualidad/2639/>, (disponible 11 Diciembre 2013))
- 14- <http://www.forospyware.com/154868-post3.html>, (actualizado 29 de octubre 2013; citado 04 diciembre 2009)
- 15.-Wikipedia.la enciclopedia libre, bacteria, [www.wikipedia.org/wiki/Bacteria](http://www.wikipedia.org/wiki/Bacteria) (disponible 28 de octubre de 2013)
- 16-Agurto, T. Microbiología, Bioquímica Bacteriana, 1ª. Edición, Lima-Perú.Ed. I. Unión; 2009,
- 17-Breastcancer.org, Los guantes y la higiene.  
<http://community.breastcancer.org/forum/64/topic/733435>
- 18-Gamazo. C, Lopez-Goñi. I, Diaz. R, Manual práctico de microbiología, 3ª Edición. Ed. Elsevier Masson; 2008.

- 19-Brook. G.F, Butel. J.S, Morse. S.A, Microbiología medica de Jawetz, Melnick y Adelberg, 18ª Edición. México DF. Ed. El Manual Moderno; 2005.
- 20-Salud práctica, 2008., (disponible 13 Enero 2010) <http://www.saludpractica.com/4-infecciones-bacterianas.html>,
- 21-INEI, APEIM, 2000, [ serie en internet]. Metodología de clasificación de niveles socioeconómicos, (actualizado 02 noviembre 2013; citado 26 de Enero 2010) [www.cpi.com.pe/web\\_cpi/NSE%20APEIM.PDF](http://www.cpi.com.pe/web_cpi/NSE%20APEIM.PDF)
- 22-MINSA. [Serie en internet]. Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas. DIGESA, 2007, (actualizado 28 octubre 2013; citado 14 Enero 2010) [http://www.digesa.minsa.gob.pe/LAB/F02-AC-PS-02\\_SE\\_ALIMENTOS\\_Y\\_BEBIDAS.xls](http://www.digesa.minsa.gob.pe/LAB/F02-AC-PS-02_SE_ALIMENTOS_Y_BEBIDAS.xls)
- 23-Graffar. M, Une méthode de classification sociales, D'Echantillons de population. Courier VI, p. 445-459, 1956.
- 24-INS, Procedimientos de laboratorio, la. Locales, 1º Edición, Instituto Nacional de Salud, Perú 2000. Pág.: 330-333.
- 25'- Historia del Distrito de Puente Piedra  
[https://es.wikipedia.org/wiki/Distrito\\_de\\_Puente\\_Piedra](https://es.wikipedia.org/wiki/Distrito_de_Puente_Piedra)
- 26- Historia del Distrito de San Borja  
<http://www.munisanborja.gob.pe/cultura/turismo/resena-del-distrito.html>
- 27- Historia del Distrito de Villa El Salvador  
<http://www.munives.gob.pe/WebSite/DISTRITO.pdf>

28- Caldo Trypticase soya

<http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/HB/CE/BA/ES-BA-257107.pdf>

29- Agar Manitol Salado

[http://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl\\_5a2ed6c53aed1.pdf](http://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a2ed6c53aed1.pdf)

30- Agar EMB (<http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8765>)



## ANEXOS

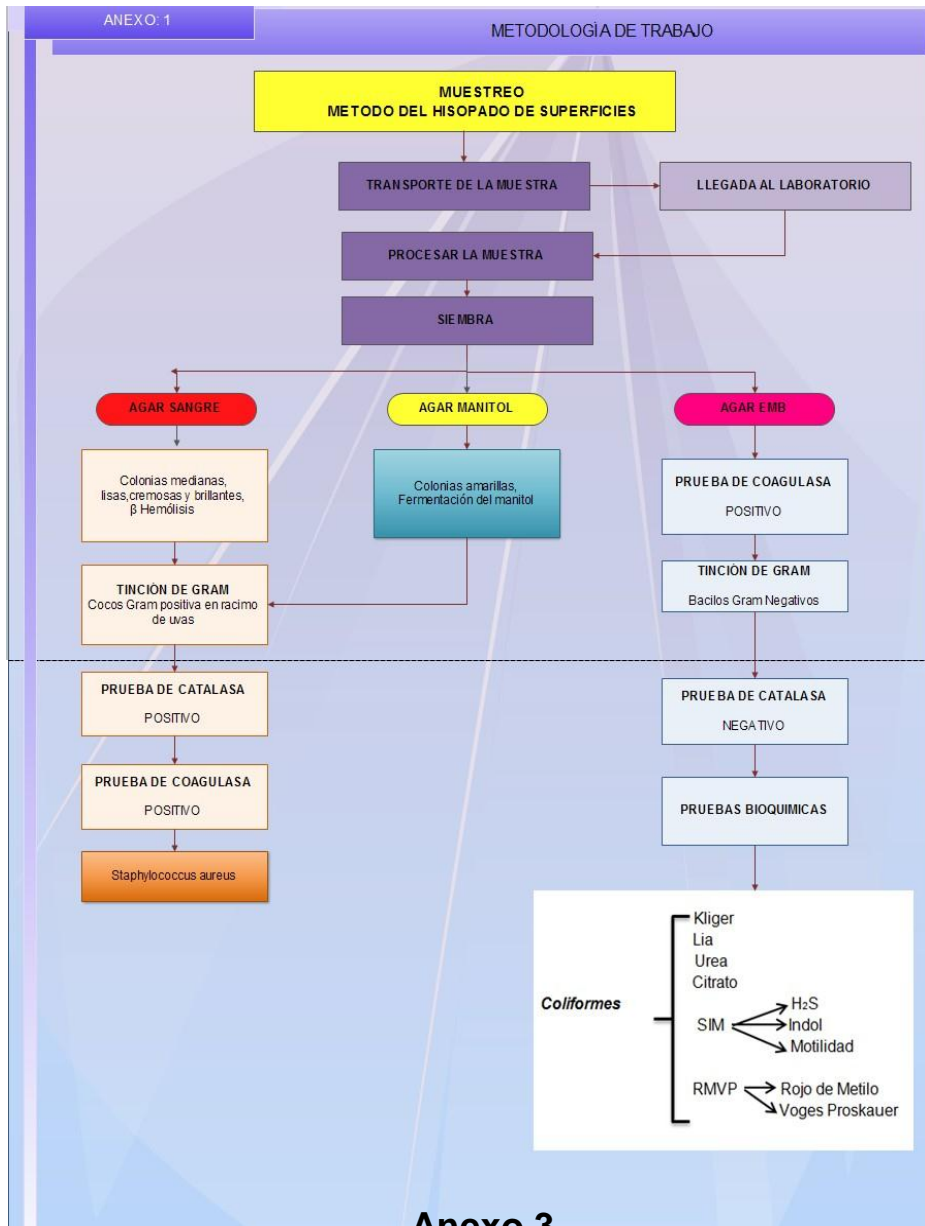
### ANEXO 1: CRONOGRAMA DE TRABAJO

#### 1- CRONOGRAMA PLAN DE

TIEMPO ACCIONES	Enero 2017	Febr.2017	Marz.2017	Abr.2017	May.2017	Jun.2017
Elaboración de introducción	X					
Inicio del proyecto		X	X			
Realizando el proyecto				X		
Revisando los resultados					X	
Interpretación de resultados					X	
Completar la información					X	
Preparación de tablas					X	
Interpretación de resultados						X
Revisando la interpretación						X
Conclusiones						X

Revisión final						X
Entrega del informe final						X

ANEXO 2



Anexo 3

## PREPARACIÓN DE REACTIVOS

### A- 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

### B- 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

### C- 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:

1 caja -----20mL de capacidad 30 cajas

x=600mL necesarios

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:

40g-----1000mL/1L agua purificada X=24g para las 30  
cajas;600mL/0.6L

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 defibrinada. A continuación los cálculos:

Ejemplo:

600mL-----100%

X=30mL de sangre de cordero 5%

#### D- 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:

1 caja-----15 mL de capacidad 10 cajas x=150 mL de Agar Manitol

Ejemplo:

111g-----1000mL/1Lt agua purificada X=16.65g para 10 cajas

150 mL/0.15Lt

### **E- 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

1 caja-----15mL

15 cajas x= 225mL de agua para Agar EMB

Ejemplo:

36g-----1000mL/1Lt de agua purificada X=8.1g de Agar EMB

225mL

### **F- 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

#### **G- 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

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

## H- 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

## I- 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

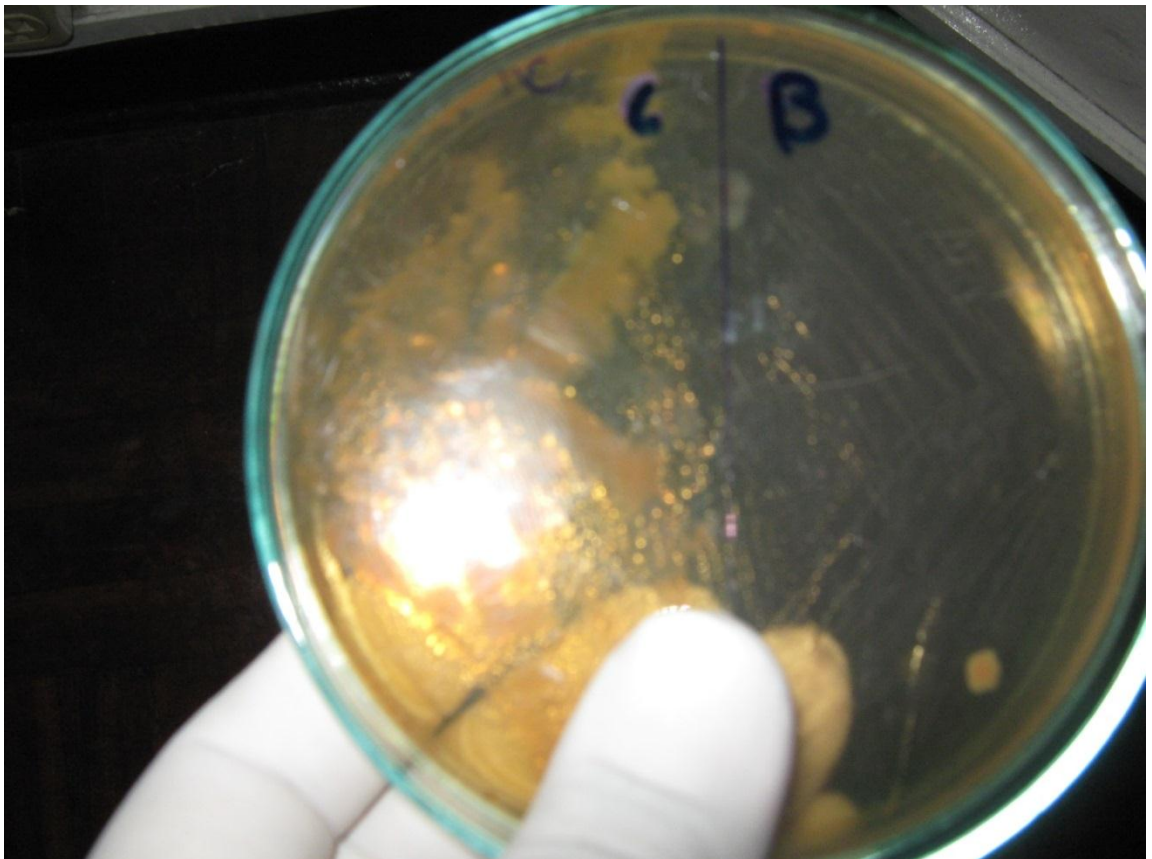
Ejemplo

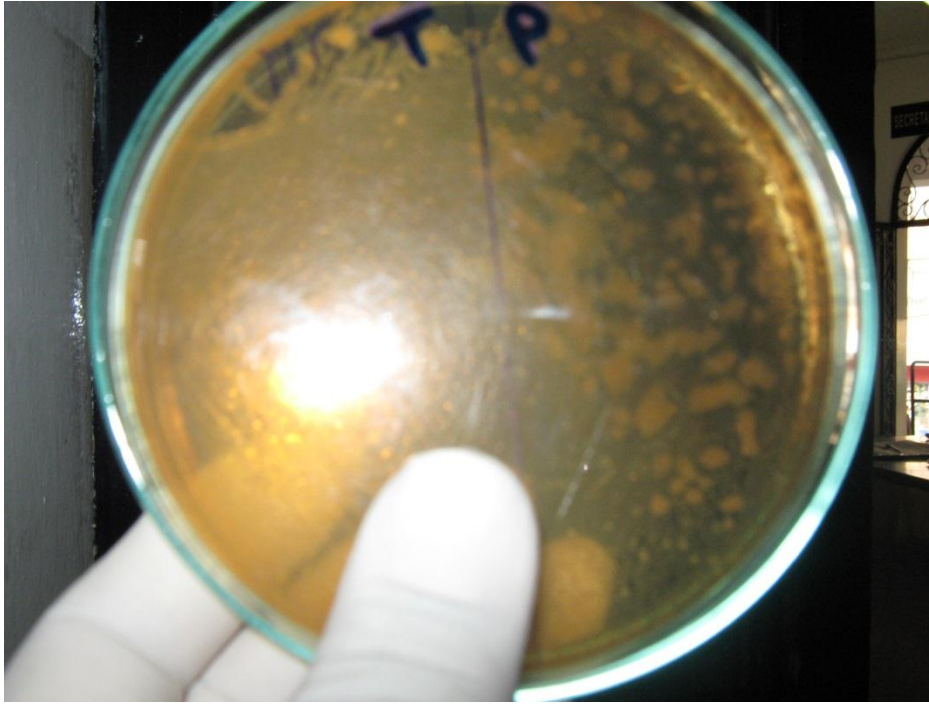
52g-----1000mL/1Lt

X= 2.6g de agar LIA    50mL



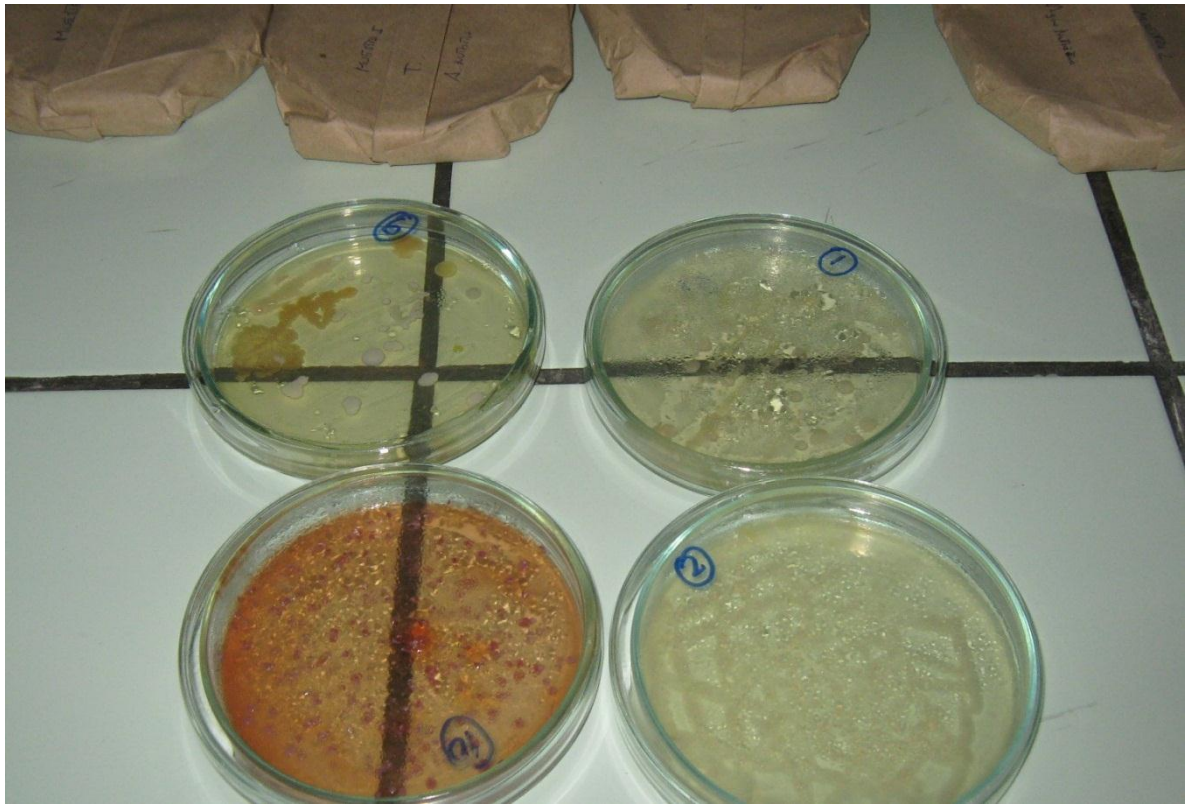
**ANEXO 4 (FOTOS)**

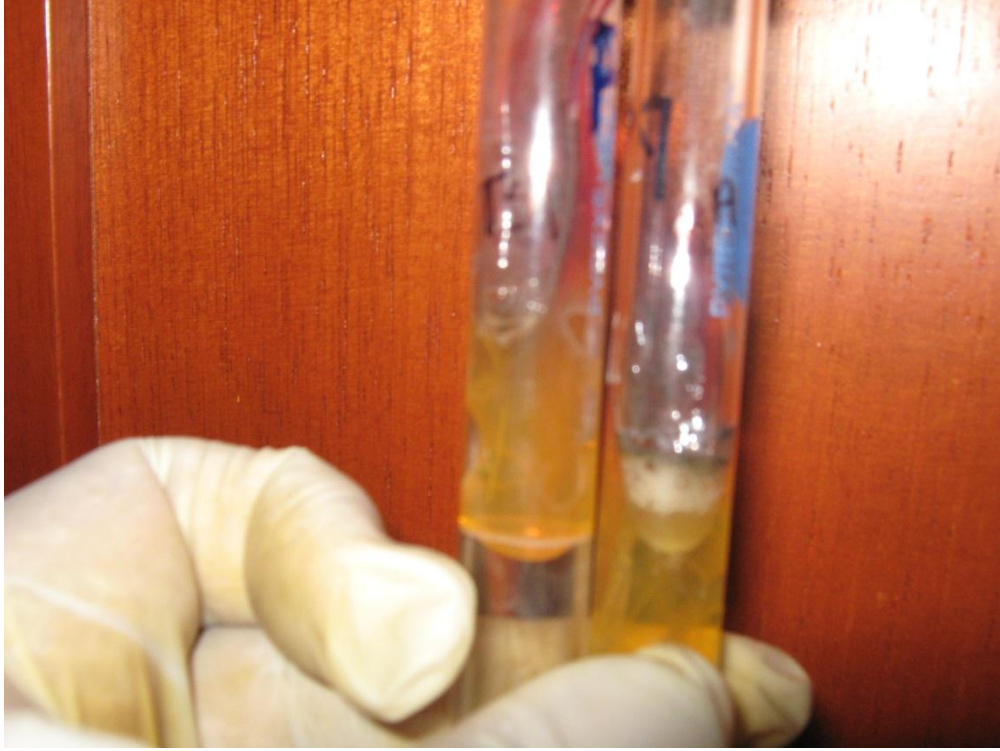


















## ANEXO 5

### GUIA DE CONTROL DE MANIPULADORES Y SUPERFICIES (Recomendado por la AOAC)

#### I- INTRODUCCION

Los manipuladores de alimentos (cocineros, meseros, carniceros, etc.) así como las superficies de trabajo (mesas, suelo, tablas de picar) son un medio de contaminación de alimentos muy peligrosos si es que no se proceden con medios adecuados de saneamiento e higiene. El alumno aprenderá a evaluar la calidad microbiológica de estos para prevenir la contaminación microbiológica de alimentos.

#### II- CAPACIDAD

- Determinar la contaminación que existe en la superficie de zonas donde se manipula alimentos

#### III- METAS

- Conoce la técnica apropiada para realizar la toma de muestra en superficies contaminadas  
- Conoce la contaminación que se presenta en la superficie de muchas zonas donde se manipulan alimentos

#### IV- MATERIALES

- Matraz Erlenmeyer 250 ml  
- Probetas volumétricas de 50 ml  
- Pipetas 5ml, 10 ml  
-Cocinilla  
-Baño María  
- Placas petri (20)  
-Incubadora  
- Autoclave  
- Agua peptonada estéril distribuida en tubos 15x125mm. 10ml por tubo.  
- Agar nutritivo estéril distribuido en placas estériles.  
- Agar sabouraud estéril distribuido en placas estériles.

#### V- PROCEDIMIENTO

Método adaptado y recomendado por la AOAC

1. Control higiénico de los manipuladores de alimentos  
el personal debe estar correctamente aseado y con la indumentaria apropiada.  
seleccionar la zona a muestrear: manos, puños, gorro, mandil, etc.  
Procedimiento de toma de muestra:
  - a) tomar con una torunda de algodón estéril y humedecerla en agua peptonada. Eliminar el exceso del medio diluyente.
  - b) Hisopar la superficie seleccionada en los sentidos que indican los esquemas a, b y c
  - c) colocar las torundas en el tubo con agua peptonada estéril, dejar en reposo por 20 min.

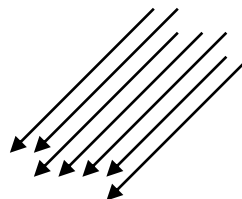
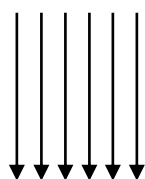


- d) Sembrar en agar nutritivo y agar Sabouraud. Tomar el hisopo del tubo con agua peptonada, eliminar el exceso de agua en las paredes y sembrar en uno de los medios, eliminar el hisopo; repetir para cada medio con hisopo nuevo estéril.
- e) Incubar a 37° C por 48 horas el agar nutritivo y de 5 a 7 días para el agar Sabouraud.

Alternativamente: tomar 0.1ml del agua peptonada inoculada con la muestra y colocarla en el centro de la placa. Extender por la superficie del agar con ayuda de hisopo estéril.

- 2. control microbiológico de superficies
  - a) escoger la superficie a muestrear
  - b) seguir el procedimiento anterior, pero usando la plantilla de latón o aluminio de 10x10cm de área y estéril.
  - c) Sembrar e incubar en las mismas condiciones que en el caso anterior.

Al día siguiente evaluar los resultados.



## VI- RESULTADOS

Observar el crecimiento de colonias en los medios, y realizar el conteo según AOC y determinar la contaminación microbiana según límite microbiano.

## VII- BIBLIOGRAFIA

[www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/129381/agrc1de1.pdf?sequence=1](http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/129381/agrc1de1.pdf?sequence=1)

<https://dialnet.unirioja.es/descarga/tesis/46567.pdf>

[www.interempresas.net/.../167316-Evolucion-contaminacion-superficies-durante-proc](http://www.interempresas.net/.../167316-Evolucion-contaminacion-superficies-durante-proc)

[www.upch.edu.pe/vrinve/dugic/revistas/index.php/REH/article/viewFile/.../2117](http://www.upch.edu.pe/vrinve/dugic/revistas/index.php/REH/article/viewFile/.../2117)

[www.laensenadacorp.com/documentos/Apuntell-MONITOREODEHIGIENE.pdf](http://www.laensenadacorp.com/documentos/Apuntell-MONITOREODEHIGIENE.pdf)

[http://www.aoac.org/aoac\\_prod\\_imis/AOAC/Publications/Official\\_Methods\\_of\\_Analysis/AOAC\\_Member/Pubs/OMA/AOAC\\_Official\\_Methods](http://www.aoac.org/aoac_prod_imis/AOAC/Publications/Official_Methods_of_Analysis/AOAC_Member/Pubs/OMA/AOAC_Official_Methods)

## ANEXO 6

### PROPUESTA DE PROGRAMA DE HIGIENE PARA LAS CABINAS PUBLICAS DE INTERNET.

- 1- Lavarse las manos después de usar las computadoras
- 2- Evitar llevarse las manos a la boca al estar usando las computadoras
- 3- No consumir alimentos dentro de las cabinas de internet
- 4- Limpiar los teclados, mouse y audífonos con un desinfectante suave que no cause daño a los equipos, como el alcohol isopropilico que desinfecta y se evapora rápido.
- 5- Tener las cabinas con una ventilación adecuada para evitar la proliferación de gérmenes en caso hubiera clientes enfermos
- 6- Realizar limpieza diaria de las cabinas en la parte del suelo, puertas y paredes.
- 7- Colocar avisos para prohibir el consumo de alimentos dentro de las cabinas.
- 8- Colocar tachos de basura dentro de las cabinas.
- 9- Prohibir fumar dentro del establecimiento.
- 10- Utilizar un soplete para limpiar computadoras regularmente y usarlo con protección adecuada de mascarilla, guantes y gorro.
- 11- Tener un botiquín de primeros auxilios dentro del establecimiento y una guía de uso de cada material.

Se debe notificar por parte del Municipio a los propietarios de las cabinas y ser requisito para los nuevos negocios. Estas normas deben ser de cumplimiento obligatorio con sanciones económicas hasta cierre a los infractores reiterativos y programar visitas para verificar su cumplimiento.



	<p>6) ¿Cuáles serían los diferentes contaminantes encontrados en computadoras de cabinas públicas en distritos socioeconómicos diferenciados de Lima Metropolitana?</p>	<p>distritos socioeconómicos diferenciados de Lima Metropolitana.</p> <p>c) Determinar los diferentes tipos de contaminantes microbianos en computadoras de cabinas públicas de distritos socioeconómicos diferenciados de Lima Metropolitana.</p>	<p>f) Existen diferencias en cuanto al tipo de contaminantes microbianos en las computadoras de los estratos socioeconómicos bajos en Lima Metropolitana.</p>	<p>Salvador y Puente Piedra.</p> <p><b>Muestra:</b></p> <p>Se analizó un total de 61 muestras sembrando cada una de ellas en agar sangre, agar manitol y agar EMB.</p> <p>.</p>
--	---	--	---	---