



CARTA DE AUTORIZACIÓN

CÓDIGO

AP-BIB-FO-06

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

1 de 2

Neiva, 26 de julio de 2017

Señores

CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

Ciudad

El (Los) suscrito(s):

Jessica Roxana Muñoz Urbano, con C.C. No. 1 075 283 765

Ana Milena Ñañez Bambague con C.C. No. 1 084 257 985,

autor(es) de la tesis titulada Análisis bacteriológico de superficies al interior de “buses” de transporte público en la ciudad de Neiva-Huila, 2016 presentado y aprobado en el año 2017 como requisito para optar al título de Licenciado en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología;

Autorizamos al CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN de la Universidad Surcolombiana para que, con fines académicos, muestre al país y el exterior la producción intelectual de la Universidad Surcolombiana, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Los usuarios puedan consultar el contenido de este trabajo de grado en los sitios web que administra la Universidad, en bases de datos, repositorio digital, catálogos y en otros sitios web, redes y sistemas de información nacionales e internacionales “open Access” y en las redes de información con las cuales tenga convenio la Institución.
- Permita la consulta, la reproducción y préstamo a los usuarios interesados en el contenido de este trabajo, para todos los usos que tengan finalidad académica, ya sea en formato CD-ROM o digital desde internet, intranet, etc., y en general para cualquier formato conocido o por conocer, dentro de los términos establecidos en la Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, Decreto 460 de 1995 y demás normas generales sobre la materia.
- Continúo conservando los correspondientes derechos sin modificación o restricción alguna; puesto que, de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación del derecho de autor y sus conexos.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, “Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores”, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

Firma:

Jessica R. Muñoz U.

Firma:

Ana Milena Ñañez B.

Vigilada Mineducación



CARTA DE AUTORIZACIÓN

CÓDIGO

AP-BIB-FO-06

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

2 de 2

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

Firma: _____

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

Firma: _____



CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	1 de 3
---------------	---------------------	----------------	----------	-----------------	-------------	---------------	---------------

TÍTULO COMPLETO DEL TRABAJO: Análisis bacteriológico de superficies al interior de “buses” de transporte público en la ciudad de Neiva-Huila, 2016

AUTOR O AUTORES:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
MUÑOZ URBANO	JESSICA ROXANA
ÑAÑEZ BAMBAGUE	ANA MILENA

DIRECTOR Y CODIRECTOR TESIS:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
ECHEVERRY HERNANDEZ	SONIA

ASESOR (ES):

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre

PARA OPTAR AL TÍTULO DE: LICENCIADO (A) EN CIENCIAS NATURALES: FISICA, QUIMICA Y BIOLOGIA

FACULTAD: EDUCACIÓN

PROGRAMA O POSGRADO: LICENCIATURA EN CIENCIAS NATURALES: FISICA. QUIMICA Y BIOLOGIA

CIUDAD: NEIVA

AÑO DE PRESENTACIÓN: 2017

NÚMERO DE PÁGINAS: 222

TIPO DE ILUSTRACIONES (Marcar con una X):

Diagramas___ Fotografías__X_ Grabaciones en discos___ Ilustraciones en general_ Grabados___ Láminas___
Litografías___ Mapas__X_ Música impresa___ Planos___ Retratos___ Sin ilustraciones___ Tablas o Cuadros__

SOFTWARE requerido y/o especializado para la lectura del documento:

Vigilada mieducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



MATERIAL ANEXO: CARTILLA

PREMIO O DISTINCIÓN (*En caso de ser LAUREADAS o Meritoria*):

PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLÉS:

Español

Inglés

- | | |
|-----------------------------------|---------------------------------|
| 1. <u>Fómites</u> | <u>Fomites</u> |
| 2. <u>Enfermedades</u> | <u>Diseases</u> |
| 3. <u>Análisis bacteriológico</u> | <u>Bacteriological analysis</u> |
| 4. <u>ADN</u> | <u>DNA</u> |
| 5. <u>PCR</u> | <u>PCR</u> |

Fómites, enfermedades, análisis bacteriológico (Extracción ADN, PCR (reacción en cadena de la polimerasa).

Key words: Fomites, diseases, bacteriological analysis (DNA extraction, PCR (polymerase chain reaction).

RESUMEN DEL CONTENIDO: (Máximo 250 palabras)

Este estudio se realizó con el fin de aislar y caracterizar las bacterias que habitan en las superficies de los buses de transporte público de la ciudad de Neiva y determinar su correlación con las posibles enfermedades transmitidas por fómites. Para cumplir con este objetivo se realizó un muestreo de manera aleatoria en horarios de mayor movilización de pasajeros en cuatro puntos de la ciudad, se tomaron muestras de 17 autobuses correspondientes a las superficies como silletería, ventanas, tubos de pasamanos y timbre utilizando la técnica de hisopado. La identificación de los microorganismos se realizó mediante pruebas bioquímicas convencionales además de una descripción fenotípica a nivel macroscópico como microscópico; posteriormente se utilizó técnicas de Biología molecular para la identificación de las especies según los morfotipos aislados de interés a partir de la extracción, amplificación y secuenciación del DNA (Rodicio y Mendoza, 2004).

De los aislamientos realizados se encontró microorganismos asociados a enfermedades transmitidas por fómites que son de fácil propagación en ambientes cerrados: *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp., así como bacterias grampositivas del género *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., *Clostridium* spp., *Corynebacterium* spp., *Micrococcus* spp., *Listeria* spp. y *Staphylococcus* spp.; en este último género se confirmaron especies como *aureus*, *epidermidis* y *saprophyticus*.

Los resultados se socializaron a través de eventos educativos y charlas sobre salubridad, acompañadas de una cartilla donde se expuso a la comunidad en general las principales medidas de seguridad para evitar el contagio indirecto con este tipo de bacterias, generando un impacto en la salud pública y ambiental de la ciudad de Neiva.

ABSTRACT: (Máximo 250 palabras)




This study was carried out in order to isolate and characterize the bacteria that inhabit the surfaces of public transport buses in the city of Neiva and to determine their correlation with possible diseases transmitted by fomites. To accomplish this objective, a random sampling was carried out at times of greater passenger mobilization at four points in the city. Samples of 17 buses corresponding to surfaces such as silleys, windows, handrail tubes and timbre were taken using the technique of Swab. Identification of the microorganisms was performed by conventional biochemical tests in addition to a macroscopic description at the macroscopic level as microscopic; Molecular biology techniques were used to identify the species according to the isolated morphotypes of interest from DNA extraction, amplification and sequencing (Rodicio and Mendoza, 2004).

Microorganisms associated with FOMs that are easily propagated in closed environments: Escherichia coli and Klebsiella spp., As well as gram - positive bacteria of the genus Bacillus spp., Lactobacillus spp., Clostridium spp. Corynebacterium spp. Micrococcus, Listeria spp. And Staphylococcus; In the latter genus species such as aureus, epidermidis and saprophyticus were confirmed.

The results were socialized through educational events and talks about health, accompanied by a primer where the main safety measures were exposed to the community in general to avoid indirect contamination with this type of bacteria, generating an impact on public health and Environmental protection of the city of Neiva.

APROBACION DE LA TESIS

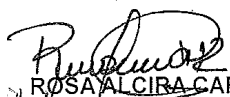
Nombre Presidente Jurado: JUAN MANUEL PEREA ESPITIA



JUAN MANUEL PEREA ESPITIA

Firma:

Nombre Jurado: ROSA ALCIRA CARREÑO AVILA



Firma: ROSA ALCIRA CARREÑO R.

Nombre Jurado: YURI MARCELA ORDOÑEZ



Firma: YULI MARCELA ORDOÑEZ

Vigilada mieducación

**ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE SUPERFICIES AL INTERIOR DE “BUSES” DE
TRANSPORTE PÚBLICO EN LA CIUDAD DE NEIVA-HUILA**

Presentado por:

JESSICA ROXANA MUÑOZ URBANO

ANA MILENA ÑAÑEZ BAMBAGUE

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

FACULTAD DE EDUCACIÓN

LIC. CIENCIAS NATURALES: FÍSICA, QUÍMICA Y BIOLOGÍA

NEIVA HUILA

2017

**ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE SUPERFICIES AL INTERIOR DE “BUSES” DE
TRANSPORTE PÚBLICO EN LA CIUDAD DE NEIVA-HUILA**

Presentado por:

JESSICA ROXANA MUÑOZ URBANO

ANA MILENA ÑAÑEZ BAMBAGUE

**TRABAJO DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE LICENCIADO EN CIENCIAS
NATURALES: FÍSICA, QUÍMICA Y BIOLOGÍA**

Directora de tesis:

Sonia Echeverry Hernández

Licenciada en Biología y Química

Magister en microbiología

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

FACULTAD DE EDUCACIÓN

LIC. CIENCIAS NATURALES: FÍSICA, QUÍMICA Y BIOLOGÍA

NEIVA HUILA

2017

Nota de aceptación

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

Neiva, 25 de Julio, 2017

Dedicatoria

Agradezco a Dios, mis padres Mercedes Urbano y Mauricio Muñoz y mi familia, especialmente a mis tios Maria Teresa, Jesús y Aura, por su esfuerzo, enseñanzas y apoyo incondicional para cumplir cada una de mis metas, gracias a esto hoy puedo culminar con éxito esta etapa de mi vida. A mis profesores y amigos quienes compartieron distintas experiencias académicas y personales a lo largo de toda mi carrera, gracias por su confianza y acompañamiento durante este proceso de formación.

Jessica Roxana Muñoz Urbano

Dedico con todo mi amor y cariño este proyecto a Dios y a mi familia, especialmente a mis padres por el apoyo incondicional y la paciencia brindada a través de esta experiencia, les agradezco porque gracias a ustedes pude concluir con éxito esta etapa de mi vida. A las personas que estuvieron presentes en este proceso, como amigos y profesores quienes compartieron su conocimiento, experiencias y confianza durante toda mi carrera universitaria.

Ana Milena Ñañez Bambague

Agradecimientos

El presente trabajo de investigación fue realizado gracias a la Universidad Surcolombiana quien a través de la Vicerrectoría de Investigaciones y Proyección social financió el proyecto bajo la asesoría de la M.Sc. Sonia Echeverry Hernández, quien nos aportó sus conocimientos académicos para la realización de este trabajo. Queremos expresar nuestros agradecimientos a la auxiliar del laboratorio de Microbiología de la Facultad de salud, María Fabiola Gómez García, quien con su apoyo, dedicación, enseñanza, tiempo y paciencia nos acompañó durante este largo proceso.

Al Laboratorio de Biodiversidad molecular y Citogenética de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Surcolombiana a cargo del Ph. Mauricio Carrillo Ávila, quien nos abrió las puertas para realizar todo el proceso de laboratorio comprendiendo la fase microbiológica y molecular.

A Wilson Rodrigo Cruz Flor quien con su apoyo académico nos guió en los procesos prácticos y teóricos de Biología molecular.

Resumen

Este estudio se realizó con el fin de aislar y caracterizar las bacterias que habitan en las superficies de los buses de transporte público de la ciudad de Neiva y determinar su correlación con las posibles enfermedades transmitidas por fómites. Para cumplir con este objetivo se realizó un muestreo de manera aleatoria en horarios de mayor movilización de pasajeros en cuatro puntos de la ciudad, se tomaron muestras de 17 autobuses correspondientes a las superficies como silletería, ventanas, tubos de pasamanos y timbre utilizando la técnica de hisopado. La identificación de los microorganismos se realizó mediante pruebas bioquímicas convencionales además de una descripción fenotípica a nivel macroscópico como microscópico; posteriormente se utilizó técnicas de Biología molecular para la identificación de las especies según los morfotipos aislados de interés a partir de la extracción, amplificación y secuenciación del DNA (Rodicio y Mendoza, 2004).

De los aislamientos realizados se encontró microorganismos asociados a enfermedades transmitidas por fómites que son de fácil propagación en ambientes cerrados: *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp., así como bacterias grampositivas del género *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., *Clostridium* spp., *Corynebacterium* spp., *Micrococcus* spp., *Listeria* spp. y *Staphylococcus* spp.; en este último género se confirmaron especies como *aureus*, *epidermidis* y *saprophyticus*.

Los resultados se socializaron a través de eventos educativos y charlas sobre salubridad, acompañadas de una cartilla donde se expuso a la comunidad en general las principales medidas de seguridad para evitar el contagio indirecto con este tipo de bacterias, generando un impacto en la salud pública y ambiental de la ciudad de Neiva.

Palabras claves: Fómites, enfermedades, análisis bacteriológico (Extracción ADN, PCR (reacción en cadena de la polimerasa)).

Abstract

This study was carried out in order to isolate and characterize the bacteria that inhabit the surfaces of public transport buses in the city of Neiva and to determine their correlation with possible diseases transmitted by fomites. To accomplish this objective, a random sampling was carried out at times of greater passenger mobilization at four points in the city. Samples of 17 buses corresponding to surfaces such as silleys, windows, handrail tubes and timbre were taken using the technique of Swab. Identification of the microorganisms was performed by conventional biochemical tests in addition to a macroscopic description at the macroscopic level as microscopic; Molecular biology techniques were used to identify the species according to the isolated morphotypes of interest from DNA extraction, amplification and sequencing (Rodicio and Mendoza, 2004).

Microorganisms associated with FOMs that are easily propagated in closed environments: *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp., As well as gram - positive bacteria of the genus *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., *Clostridium* spp. *Corynebacterium* spp. *Micrococcus*, *Listeria* spp. And *Staphylococcus*; In the latter genus species such as *aureus*, *epidermidis* and *saprophyticus* were confirmed.

The results were socialized through educational events and talks about health, accompanied by a primer where the main safety measures were exposed to the community in general to avoid indirect contamination with this type of bacteria, generating an impact on public health and Environmental protection of the city of Neiva.

Key words: Fomites, diseases, bacteriological analysis (DNA extraction, PCR (polymerase chain reaction)).

Índice

Resumen.....	6
Abstract.....	7
Lista de Tablas	10
Lista de Gráficas	12
Lista de Figuras.....	13
Lista de anexos.....	14
Lista de Cuadros	15
Glosario.....	16
Introducción	1
1. Objetivos.....	4
1.1.1 Objetivo General.....	4
1.1.2 Objetivos Específicos.....	4
1.2 Planteamiento del problema.....	5
1.2.1 Definición Del Problema	5
1.2.2 Planteamiento Del Problema.....	5
1.3 Justificación	7
1.4 Marco Teórico.....	8
1.5 Estado del arte.....	12
1.6 Materiales y métodos	21
1.6.1 Materiales.....	21
1.6.2 Reactivos.....	21
1.6.2.1 Pruebas microbiológicas	21
1.6.2.2 Pruebas moleculares.....	21
1.7 Metodología	22
1.7.1 Fase de campo.....	22
1.7.1.1 Área de estudio.....	22
1.7.2 Muestreo	24
1.7.3 Fase de laboratorio.....	25
1.7.3.1 Descripción de la morfología de colonia	26
1.7.4 Fase biología molecular	28
1.7.4.1 Extracción de ADN a partir de cultivos puros	28
1.7.4.2 Amplificación de genes rRNA 16S y región espaciadora ITS por PCR.....	29

1.7.4.3 Purificación y secuenciación.....	30
1.7.4.4 Verificación visual y alineación.....	30
1.7.5 Análisis estadístico.....	31
1.7.6. Fase de divulgación.....	31
1.8 Desarrollo Del Proyecto.....	32
1.8.1 Flujo de personas en tres jornadas diferentes del día.....	32
1.8.2 Recuento de unidades formadoras de colonia por placa (UFC/placa) y morfotipos aislados.....	33
1.8.3 Morfología según tinción de Gram.	39
1.8.4 Identificación Mediante Pruebas Microbiologicas De Los Morfotipos Aislados Según La Forma y Agrupación.....	41
1.9 Análisis de resultados	57
Conclusiones	69
Recomendaciones	72
Bibliografía	73
Anexos	81

Lista de Tablas

Tabla 1. Superficies vs símbolo	26
Tabla 2. Número de personas por autobús en un lapso de 45 minutos en tres jornadas diferentes del día.	32
Tabla 3. Número de UFC/placa y morfotipos aislados en las superficies de los autobuses durante el muestreo preliminar	33
Tabla 4. Número de UFC/placa y morfotipos aislados en las superficies de los autobuses durante el primer muestreo.....	35
Tabla 5. Número de UFC/placa y morfotipos aislados en las superficies de los autobuses durante el segundo muestreo.....	36
Tabla 6. Promedio de UFC/placa en cada superficie según los muestreos preliminar, primero y segundo	38
Tabla 7. Número de aislamientos por muestreo según tinción de Gram.....	40
Tabla 8. Identificación de cocos grampositivos	41
Tabla 9. Identificación de bacilos gramnegativos.....	42
Tabla 10. Identificación bacilos esporulados	44
Tabla 11. Bacilos no esporulados	44
Tabla 12. Número de aislamientos por superficie y porcentaje de aparición de los microorganismos identificados durante el muestreo preliminar.....	45
Tabla 13. Número de aislamientos por superficie y porcentaje de aparición de los microorganismos identificados durante el primer muestreo	46
Tabla 14. Número de aislamientos por superficie y porcentaje de aparición de los microorganismos identificados durante el segundo muestreo	48
Tabla 15. Número de aislamientos durante el muestreo preliminar, primero y segundo.....	49
Tabla 16. Porcentaje de aparición para los aislamientos bacterianos en los diferentes muestreos, según clasificación de Yadav y Madelin.....	51
Tabla 17. Índice de diversidad, dominancia y equitabilidad según las superficies muestreadas en los buses de transporte público de la ciudad de Neiva	52
Tabla 18. Identificación de morfotipos bacterianos por secuenciación del fragmento ITS rDNA y 16s rDNA	54
Tabla 19. Secuencias que producen mayor similitud para las bacterias aisladas según BLASTN SUITE.	55
Tabla 20. Morfología de colonia muestreo preliminar.....	89
Tabla 21. Morfología de colonia primer muestreo	97
Tabla 22. Morfología segundo muestreo	112
Tabla 23. Identificación de Cocos grampositivos muestreo preliminar.....	166
Tabla 24. Identificación de bacilos gramnegativos muestreo preliminar.....	167
Tabla 25. identificación de bacilos grampositivos no esporulados.....	171
Tabla 26. Identificación de bacilos esporulados muestreo preliminar	173
Tabla 27. Identificación de cocos grampositivos primer muestreo.....	174
Tabla 28. Identificación de bacilos gramnegativos del primer muestreo.....	176
Tabla 29. Identificación de bacilos esporulados primer muestreo	179
Tabla 30. Identificación bacilos no esporulados primer muestreo.....	180
Tabla 31. Identificación de cocos grampositivos segundo muestreo.....	185
Tabla 32. Identificación de bacilos gramnegativos segundo muestreo.....	188
Tabla 33. Identificación de bacilos grampositivos esporulados segundo muestreo.....	191

Tabla 34. Identificación de bacilos grampositivos no esporulados.....	196
Tabla 35. Cuantificación de las muestras de ADN bacteriano.....	199

Lista de Gráficas

Gráfica 1. Número de personas en lapsos de 45 minutos en tres horarios diferentes.....	33
Gráfica 2. Número de colonias formadoras por placa (UFC/placa) muestreo preliminar	34
Gráfica 3. Número de colonias formadoras por placa (UFC/placa) primer.....	36
Gráfica 4. Número de UFC/placa durante el segundo muestreo	37
Gráfica 5. Promedio de UFC/placa en cada superficie según los diferentes muestreos.....	38
Gráfica 6. Promedio total de UFC/placa en cada superficie	39
Gráfica 7. Porcentaje del número de aislamientos totales por muestreo según tinción de Gram	40
Gráfica 8. Porcentaje de aparición de géneros y especies en muestreo preliminar.	46
Gráfica 9. Porcentaje de aparición de cada morfotipo en primer muestreo.....	47
Gráfica 10. Porcentaje de aparición de géneros y especies, segundo muestreo.	49
Gráfica 11. Porcentaje total de aparición de géneros y especies.	51

Lista de Figuras

Figura 1. Área de estudio	23
Figura 2. Principales empresas transportadoras.....	23
Figura 3. Toma de muestra con hisopo estéril	25
Figura 4. Índice de Shannon para cada superficie A. Ventana, B. Timbre, C. Silla y D. Pasamanos.....	53
Figura 5 Amplificación del gen 16S rRNA con tamaño aproximado de 440 pb (A y D) y región ITS con tamaño aproximado de 990 pb (B, C Y E).....	53
Figura 6 Cabina de flujo laminar	200
Figura 7 Autoclave.....	200
Figura 8 Baño María	200
Figura 9 THERMO SCIENTIFIC NANODROP 2000	201
Figura 10 Termociclador MultiGeneOptiMaxThermalCycler.....	201
Figura 11. Equipo de electroforético.	201
Figura 12. Microscopio óptico.....	202
Figura 13. Centrifuga.....	202
Figura 14. Balanza analítica.....	202
Figura 15. Incubadora	203
Figura 16. Agitador magnético	203
Figura 17. Inoculación de bacterias.	203
Figura 18. Bacterias sembradas en Agar Nutritivo.....	204
Figura 19. Escherichia coli A. Agar MacConkey y B. Agar EMB.....	204
Figura 20. Extracción de ADN	204
Figura 21. Pruebas bioquímicas (A. Agar Manitol +; B. Agar TSI A/A; C. Agar LIA + descarboxilacion; D. Agar Citrato -; E. Urea -).....	205
Figura 22. Amplificación de ADN.....	205
Figura 23. Electroforesis.....	205
Figura 24. Preparación de medios de cultivo.....	206

Lista de anexos

Anexo A. Tinción de Gram.....	81
Anexo B. Pruebas Bioquímicas	82
Anexo C. Medios de cultivo	84
Anexo D. Descripción de la morfología de colonia	89
Anexo E. Descripción de la morfología celular.	126
Anexo F Tablas de identificación muestreo preliminar, primer y segundo muestreo.....	166
Anexo G Cuantificación de ADN bacteriano	199
Anexo H. Registro fotográfico.....	200
Anexo I Procedimientos en laboratorio	203

Lista de Cuadros

Cuadro 1 Referentes internacionales.....	12
Cuadro 3 Referente nivel nacional.....	20
Cuadro 4. Descripción de la morfología celular de cada morfotipo aislado en muestreo preliminar	126
Cuadro 5. Descripción de la morfología celular de cada morfotipo aislado en primer muestreo	137
Cuadro 6. Descripción de la morfología celular de cada morfotipo aislado en primer muestreo	159

Glosario

Fómite: Objeto inanimado que es capaz de albergar microorganismos y que puede diseminar una infección (Ingraham e Ingraham, 1998)

Hisopo: Instrumento con punta de algodón o de rayón que se utiliza humedecido con solución diluyente para facilitar la recuperación bacteriana, en el muestreo de superficies.

Microbiota: La microbiota es el conjunto de microorganismos (bacterias, hongos, arqueas, virus y parásitos) que reside en nuestro cuerpo, que a su vez pueden diferenciarse en comensales, mutualistas y patógenos. (Mateos, Pérez, Pérez y Rodríguez, 2016)

Morfotipo: Cualquier microorganismo de un grupo de diferentes tipos de cepas de la misma población de bacterias (Rocha, Lozano y Martínez, 2004)

Biofilms: Los biofilms se definen como comunidades de microorganismos que crecen embebidos en una matriz de exopolisacáridos y adheridos a una superficie inerte o un tejido vivo Nazar, (2007).

Adhesión bacteriana; reside en las características de la película adquirida y en la especificidad de las proteínas adsorbidas salivares (receptores), que puedan ser condicionadas por la composición del material o por las características de superficie de este (Ábalos, 2005).

Primer's: Son fragmentos complementarios que se van a unir a cada una de las dos cadenas separadas del templado de ADN (Cortázar y Silva, 2004)

Introducción

En el año de 1859 Louis Pasteur demostró que la generación espontánea no existe y habló sobre la presencia de los microbios, con lo cual se comprobó que éstos crecen y se desarrollan en diversos hábitats. La microbiota se establece como la comunidad de microorganismos que se encargan de colonizar un determinado ambiente, en donde se establecen relaciones entre sus elementos que conduzcan a un equilibrio entre todos, entendido de esta manera se hablaría de una homeostasis hasta que exista alguna alteración externa que haga cambiar esta estabilidad en el sistema.

Se calcula que en los seres humanos habitan más de 100 billones de bacterias, en donde se establece una relación simbiótica. Las simbiosis pueden ser de tres tipos: parasitaria, en donde el huésped resulta afectado; comensal, y mutualista, en donde le sea indiferente o resulte beneficiado de la asociación. Si bien, es sabido que en el organismo hay presencia de microbiota normal que habita en la superficie epidérmica (piel) y los conductos y cavidades del organismo que se comunican con el exterior, es así como el primer contacto que se tiene con estos microorganismos se da desde el momento de nacer, en donde el neonato tiene interacción con la microbiota normal de la madre (Suárez y Redecillas, 2016).

La relación generalmente es por mutualismo, en donde los microorganismos encuentran ambientes en los cuales desarrollarse bajo óptimas condiciones, a su vez proporcionando ciertas ventajas frente a la invasión de patógenos ayudando así a la digestión. Sentado esto, es importante establecer que esta simbiosis puede cambiar convirtiéndose en parasitaria cuando se pierde el equilibrio entre huésped-bacteria, esto es debido a traumatismos, disfunciones del sistema inmune y enfermedades severas, que harán que los microorganismos entren a actuar como patógenos oportunistas, dando lugar a infecciones endógenas.

La microbiota de piel, se modifica bajo distintos factores entre los que se incluyen las condiciones abióticas como temperatura, concentración de sal de cada región del cuerpo, las cuales incluyen axilas, pliegues y conductos. Al igual que se ve intervenida por el contacto que se da con diferentes objetos, animales u otros humanos (Grice y Segre, 2011). Los elementos que a diario son usados y que pueden presentar diferente tipo de bacterias son los timbres, sillas, pasamanos y ventanas de los buses de transporte público. Las condiciones ambientales en las que se encuentra el país, la sudoración del usuario y las malas prácticas de higiene permiten que estos sitios sean hábitat de diversos microorganismos. Así como los autobuses han sido modificados a nivel automotriz, también lo han sido a lo referente a sus superficies internas tales como silletería, ventanas, pasamanos; en donde a nivel de la silletería se ha pasado de utilizar materiales como la espuma hasta la fabricación con plástico, en cuanto a lo referente con los pasamanos debido a que estas estructuras generalmente son fabricadas de acero con algunos recubrimientos metálicos como Cromo (Cr), Níquel (Ni) o Zinc (Zn) se ha optado por buscar nuevos materiales como el Cobre (Cu) ya que las superficies metálicas albergan una cantidad de bacterias y virus que son la causa de un porcentaje relevante de enfermedades que puede adquirir cualquier persona al estar en contacto directo con superficies metálicas contaminadas.

Según Córdova, Vong y Borges, (2016) los carritos de compras de los supermercados y los pasamanos de los autobuses se encuentran entre los cinco sitios más contaminados por bacterias heterótrofas. En definitiva, dado que como se expone estas superficies son un reservorio de diversas bacterias, se realizan técnicas de microbiología convencionales para la identificación bacteriana la cual permite que los ciudadanos, transportadores y comunidad en general conozcan qué tipo de bacterias se encuentran presentes y cuál es la relación con las posibles enfermedades a

las que a diario se encuentran expuestos. Para mayor eficiencia se realizan técnicas de Biología molecular que permiten confirmar la especie de microorganismo aislado.

1. Objetivos

1.1.1 Objetivo General

- Identificar las bacterias presentes en superficies al interior de los buses de transporte público de la ciudad Neiva-Huila

1.1.2 Objetivos Específicos

- Determinar si las bacterias que se encuentran en el sistema de transporte público “buses” de la ciudad están relacionadas con enfermedades transmitidas por fómites
- Establecer puntos de muestreo en el horario de mayor movilización de pasajeros y su relación con la transmisión de posibles enfermedades
- Fomentar una buena práctica de higiene y correcto lavado de manos a través de una cartilla pedagógicas para evitar la transmisión de enfermedades por contacto indirecto con bacterias patógenas presentes en los buses de transporte público

1.2 Planteamiento del problema

1.2.1 Definición Del Problema

¿Cuáles son las bacterias presentes en las superficies del sistema de transporte público “buses” en Neiva y cuál es su correlación con las posibles enfermedades que pueden ser transmitidas a las personas que hacen uso de este servicio?

1.2.2 Planteamiento Del Problema

Las superficies están expuestas a diferentes tipos de bacterias, poseen características específicas donde es posible desarrollarse; de esta manera, cualquier persona, animal, objeto o lugar puede ser un foco para la proliferación de una población bacteriana. Distintos objetos de uso diario como pasamanos de colectivos de servicio público, billetes, cajeros automáticos, celulares, entre otros, están expuestos a las bacterias, que como bien es conocido según sus características estas pueden tener un carácter patógeno. Estos sitios son denominados por la comunidad científica como fómites, es decir ambientes inanimados que intervienen en la diseminación de una infección.

Debido a que la ciudad de Neiva posee un clima propicio para el crecimiento de microorganismos, es importante realizar un estudio que abarque la caracterización del tipo de bacterias presentes en los tubos de buses (pasamanos), silletería, ventanas y timbre del servicio público de la ciudad, ya que a diario este servicio colectivo maneja una gran cantidad de pasajeros. Esta situación expone a las personas a adquirir enfermedades y a generar la contaminación cruzada, dado que muchas de ellas al llegar a su sitio de destino no se lavan las manos y entran en contacto con otras personas ya sea por manipulación de alimentos, un saludo u otros factores que facilitan este tipo de contaminación.

Una buena forma de evitar el contagio de enfermedades por el contacto con bacterias patógenas, es tener una práctica de higiene adecuada como el lavado de manos que según la Organización

Mundial de la salud (OMS) previene enfermedades como la diarrea y la neumonía, que a nivel mundial causan al año la muerte de más de 3,5 millones de niños menores de 5 años. Es tanta la importancia de este aspecto, que se estableció desde el 15 de octubre de 2008 el Día Internacional del lavado de manos, en el mundo se busca crear una concienciación sobre la importancia de esta práctica.

1.3 Justificación

Este estudio fue realizado por estudiantes de la Universidad Surcolombiana de la Facultad de Educación, pertenecientes al programa de Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología, con el fin de caracterizar bacterias presentes en pasamanos, silletería, ventanas y timbre de buses de transporte público de la ciudad de Neiva, Huila. A partir de estudios anteriores en este tipo de superficies, se planteó una investigación que permitiera determinar el grado de contaminación a la que están expuestos los ciudadanos al utilizar este medio de transporte. Para tal fin, se caracterizaron bacterias, las cuales fueron correlacionadas con enfermedades como la diarrea, infecciones respiratorias agudas, gastrointestinales y de piel, entre otras enfermedades de origen entérico.

Por observaciones directas, se estableció que se transportan aproximadamente un total de 16 personas cada 45 minutos, con rangos de edad y ambientes distintos. Al ser un punto de encuentro colectivo, entran en relación personas con hábitos higiénicos distintos que en ocasiones no son adecuados, por lo que es necesario que la persona menos informada tenga en cuenta que puede ser un huésped susceptible al contagio indirecto con este tipo de bacterias las cuales pueden ser patógenas, patógenas oportunistas y de la microbiota normal, destacando que las dos primeras pueden llevarlo a adquirir una enfermedad. De acuerdo con lo anterior, los resultados del proyecto constituyen un impacto a nivel de la salud pública de la ciudad, ya que permite tomar conciencia de la importancia de las correctas prácticas de higiene para evitar el contagio de enfermedades después de estar contacto con este tipo de superficies.

Además, este proyecto será un marco referencial para nuevas investigaciones de esta misma índole, debido a que no hay investigaciones a nivel regional y a nivel nacional e internacional han sido muy pocas con recomendaciones de ahondar en la investigación y los respectivos análisis.

1.4 Marco Teórico

Las bacterias son microorganismos con diversos hábitats, se pueden encontrar en ambientes terrestres, acuáticos y aéreos, tienen una estrecha relación con los demás seres vivos, se desarrollan en diferentes superficies y han gobernado ambientes extremos, tales como el océano Antártico el cual permanece congelado casi todo el año, así como en el Mar Muerto que contiene concentraciones de sal que excluyen otras formas de vida (Audesirk, Audesirk, y Byers 2003).

Según su clasificación nutricional estos microorganismos poseen todas las formas de fuentes de energía y carbono, dentro de estas se encuentran los organismos quimiótrofos los cuales presentan una fuente de energía química que a su vez se divide en quimioautótrofos y quimioheterótrofos; así como bacterias fotótrofas que hacen uso de la luz y según su fuente de carbono pueden ser fotoautótrofos y fotoheterótrofos (Tortora, Funke y Case, 2007). Las bacterias son organismos unicelulares procariotas, cuentan con una membrana celular, realizan su síntesis proteica en los ribosomas y tienen ácido desoxirribonucleico (ADN), tal cual los organismos eucariontes; éstas difieren en que no poseen membrana nuclear al no poseer compartimientos intracelulares asociados con membrana. En algunos microorganismos bacterianos hay presencia de fimbrias, pilis y flagelos.

Una característica fundamental es que su ADN es circular y cerrado, poseen una capa de peptidoglicano (a diferencia de los mycoplasmas), su reproducción es asexual mediante fisión binaria, además poseen otro tipo de mecanismos reproductivos que implican una recombinación genética que se puede presentar por transducción, conjugación o transformación. Por medio de la fisión la célula crece, se forma un complejo denominado tabique el cual da origen a dos células nuevas; cabe resaltar que en este proceso la replicación del ADN también se produce, dando como resultado que las células hijas van a contener un duplicado idéntico del genoma de la progenitora.

En dicho proceso la célula crece, se forma un tabique y finalmente se desprenden dos células nuevas. En este proceso se produce también la replicación del ADN, de forma que las células hijas contienen cada una un duplicado idéntico del genoma de la progenitora (Pérez y Mota, 2008).

El tamaño de estos microorganismos varía de una especie bacteriana a otra de acuerdo con Montoya (2008) “la mayoría está dentro de un rango aproximado de 0,5 a 2,0 μm de ancho y 1 a 10 μm de largo” (p.23). Algunas especies presentan un tamaño mayor que oscila entre los 2 a 100 μm de acuerdo a su estructura alargada, así como actualmente se establece que hay bacterias muy pequeñas, denominadas *nanobacterias* las cuales aún están en consideración. Es importante resaltar que al ser organismos tan diminutos su observación se realiza en microscopio óptico o electrónico; para la observación con el microscopio óptico se utiliza objetivo a (100X) con una gota de (aceite de inmersión), el cual aumenta 1000X veces el tamaño de la bacteria. Además, se requiere de una tinción la cual permite que por medio de colorantes se observe los diferentes tipos de células y si así lo fuera los determinantes constituyentes celulares, tales como, esporas, cápsulas, flagelos, paredes celulares, centros de actividad respiratoria, etc. Inicialmente, las células deben ser fijadas para coagular el protoplasma; esto generalmente se hace a través del calor, también puede realizarse mediante sustancias químicas como ácidos, alcoholes y formaldehidos (McFaddin, 2003).

La tinción de Gram es una de las técnicas más utilizadas en la microbiología convencional con la cual se reconoce la morfología celular (cocos, bacilos), además de caracterizar si son negativos o positivos. Esta debe su nombre a Christian Gram, quién elaboró esta tinción con la cual se divide a las bacterias en gramnegativas y grampositivas, esto debido a que tiñen distinto por las diferencias constitutivas que hay en las paredes celulares. Las primeras presentan una capa muy delgada de peptidoglicano y una membrana exterior que es rica en fosfolípidos, lipoproteínas y

lipopolisacáridos mientras la grampositiva tiene una pared rígida y gruesa de peptidoglicano que además presenta ácido teicoico (Seija, 2008).

Según su forma las bacterias se clasifican en cocos (esféricos u ovalados), bacilos (cilíndricos o de bastones; rectos y curvos) y espirilos (en espiral), esto depende de la rigidez de su pared celular. Los cocos presentan distintas agrupaciones debido a dos características una es su plano de división celular y la tendencia de las células a permanecer unidas después de la división Montoya (2008). Esto da origen a distintas agrupaciones tales como los estafilococos, estreptococos, tétradas y sarcinas. Los cocos que se forman cuando el plano de división se ha dado totalmente se denominan micrococos y cuando las células presentan división en un plano y permanecen unidas en pareja se les conoce como diplococos. Las bacterias pueden mantenerse unidas unas con otras después de la división celular, pero conservando siempre la independencia celular. Si el plano de división es único, se puede encontrar diplococos o cocos en cadena (microorganismos del género *Streptococcus*). Si los planos de división son muchos, los cocos pueden agruparse en tétradas o en racimos (*Staphylococcus*). Los bacilos pueden ser muy cortos (cocobacilos) o muy largos. Sus extremos pueden ser redondeados o rectos; al igual que estar aislados, en cadenas, en filamentos o formando letras chinas.

Partiendo de la idea del concepto de fómite, se planteó el estudio denominado Análisis bacteriológico de superficies al interior del sistema de transporte público buses en la ciudad de Neiva-Huila, debido al impacto que este tema puede tener en la salud pública de la ciudad. Según Tortora *et al*, (2007), "Existe transmisión por contacto indirecto al momento en que un agente que causa una enfermedad es transmitido desde su reservorio a un huésped susceptible a través de un objeto inanimado". Es así, como se alude el término de fómite para cualquier objeto inanimado que intervenga en la diseminación de una infección.

El amplio interés en esta temática se ha estudiado en diferentes países: en el Centro Universitario de México en el Laboratorio de Jóvenes hacia la Investigación, el biólogo Julián José Náder García y su equipo de investigación realizaron un estudio sobre las bacterias presentes en el sistema colectivo Metro al interior de los vagones, encontrando colonias de bacterias como estafilococos, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. y *Escherichia coli* que presentan un grado de patogenicidad elevado para el ser humano.

Por otra parte, una investigación hecha en New York por Christopher E. Mason del *Weill Cornell Medical College*, encontró que en casi la mitad de la cartografía de ambientes urbanos hay bacterias desconocidas, que al contrastarlas con un estudio del “microbioma del aire” de esta ciudad, corresponden a los hallazgos de ADN secuenciado para especies no determinadas (Afshinnekoo *et al.*, 2013).

Hacia el año 2011, la terapeuta respiratoria Johanna Hurtado con un grupo de estudiantes de la Universidad Manuela Beltrán de Bogotá D.C realizó un estudio en donde analizó que los celulares, tubos de bus y cajeros automáticos representan una gran fuente de contaminación por bacterias, las cuales al ingresar al organismo por vía oral pueden ser causantes de diarreas agudas y de infecciones respiratorias.

Según Betancur, Estrada, Ceballos, Sánchez, Abad, Vanegas y Salazar (2010) “Uno de los fómites que presenta un foco de proliferación de bacterias es el papel moneda colombiano, ya que puede actuar como fómite de microbiota ambiental y de bacterias potencialmente patógenas para el hombre” (p.121). Este estudio está relacionado con la temática a tratar en esta investigación, por cuanto para ingresar al sistema de transporte público se necesita cancelar un valor al ingresar.

1.5 Estado del arte

Cuadro 1 Referentes internacionales

AUTOR Y AÑO	TITULO	OBJETIVOS	METODOLOGÍA	CONCLUSIONES
Ortiz, Segovia, A; Valdez y Velezvilla, 2013	Aislamiento de microorganismos del ambiente y superficies del transporte público en horas de mayor movilización por usuarios Lima-Perú	Aislar microorganismos del ambiente y superficies del transporte público en horas de mayor movilización usuarios Lima-Perú	<p>En la fase de laboratorio se prepararon los medios de cultivo como los agares MacConkey, manitol sal y TSI, además de 12 tubos de ensayo con suero fisiológico. En la realización de la prueba bioquímica se emplearon los medios TSI, Lía, citrato y Urea.</p> <p>En la Fase de Campo Método 1. Plaqueo al ambiente e hisopados de la baranda de los carros, donde 3 placas que contenía agar MacConkey, manitol sal y TSA fueron expuesto al ambiente durante 5 minutos.</p>	El resultado también muestra la importancia del contacto directo con alguna superficie como medio de infección sobre todo para bacterias entéricas que se encuentran siendo una de las principales causas de muerte en menores de cinco años (Organización Mundial de la Salud [OMS] 2005.)

Método 2. También se procedió el hisopado de las barandas de este transporte, donde fueron colocadas en el tubo de ensayo que contenía suero fisiológico; este plaqueo e hisopado se realizó en dos turnos (mañana y tarde) por 3 días, obteniendo 18 placas y 6 hisopados que se encontraba en suero fisiológico.

Medéa, Jennè, Navarini, Paschoalotti y 2008	Sciascia, Chieffi, Potencial infeccioso de transporte público de passageiros da cidade de São Paulo	Analizar el potencial infeccioso de El transporte público en la ciudad de São Paulo, a través de identificación de microorganismos y parásitos aislados en autobuses	La recogida de las muestras se llevó a cabo en tres balaustres de cada colectivo, en los siguientes lugares: mientras entrada, trinquete y por fuera, toda la altura media promedio estimada en alcance un rango de manos (1,30 m) en una zona de 150 cm ² y 40 autobuses que circulan en São Pablo, de enero a julio de 2006.	Es necesario destacar la importancia y la viabilidad de las recomendaciones de higiene de superficies como los balaustres de autobús, extrapolando a todas las demás superficies que están más expuestas son públicos contacto. Una simple limpieza con alcohol al 70% sería eficaz contra los microorganismos que se encuentran. (Voss, Widme1.997) Llegamos a la conclusión de
---	---	--	---	--

Las muestras para el análisis microbiológico fueron recogidas a través de la prueba de superficie hisopo estéril, colocado en el medio de transporte (Stuart) y se envía al laboratorio dentro de las 48 horas, que fueron sembradas en placa de agar sangre y se incubaron durante 24 horas a 35 °C. Los microorganismos fueron identificados por pruebas bioquímicas con técnicas ya establecidas (Isenberg, 1998).

Para Gram negativo se llevó a cabo pruebas bioquímicas para identificación de la especie, como para la positiva Cocos Gram.

Se llevó a cabo a la catalasa y la identificación de Staphylococcus se llevó a cabo la prueba y coagulasa Streptococcus

Se hizo prueba de bilis esculina y NaCl. Después la identificación de agentes llevó a cabo prueba de sensibilidad a través de la metodología de Kirby Bauer (disco difusión). (NCCLS, 2005).

Para el examen parasitológico fue ejecutado "hisopo" sobre la superficie del balaustre, usando cinta adhesiva transparente sobre las superficies a ser examinadas. Entonces pegado a la cinta en un portaobjetos de microscopio, se identificó correctamente con el colectivo local, la fecha y la trayectoria del vehículo en cuestión. La diapositiva, con la cinta correspondiente se examina bajo un microscopio ópticos, utilizando incrementos de 100 y 400 veces.

López, Gerba, Tamimi, Kitajima, Maxwell, & Rose, (2013).

Transfer Efficiency of Bacteria and Viruses from Porous and Nonporous Fomites to Finger under Different Relative Humidity Conditions

Examinar el efecto de la humedad relativa baja y alta en la eficiencia de transferencia-fómite a dedo de cinco organismos modelo de varias superficies inanimadas comunes (fómites).

El proyecto fue revisado y aprobado por la Comisión de Ética em Pesquisa da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

Un sujeto llevó a cabo los experimentos de transferencia-fómite-a dedo. La autorización se obtuvo de la Universidad de Oficina de Arizona para la investigación con sujetos humanos anteriores al estudio.

Se utilizó un método de hisopo de algodón-poliéster que se ha utilizado comúnmente para recuperar microorganismos de los dedos y fómites en estudios de transferencia (37, 47), aunque también se han desarrollado otros métodos tales como jugo de guante y de aclarado en eluyente (procedimientos de elución directos) y

En el presente estudio, se probaron un número de diferentes fómites, proporcionando un amplio conjunto de datos para estimar las distribuciones en la eficiencia de transferencia que dependen del tipo de fómite y el microorganismo. Nuestros resultados destacan la importancia de la humedad relativa en las tasas de eficiencia de transferencia fómite-a dedo organismo. La mayoría de las especies tenían mayores eficiencias de transferencia en condiciones de alta humedad relativa que en condiciones de baja humedad relativa. Se encontró que el tipo fomite

utilizado en algunos estudios (41, 46, 52 - 54). Se compararon las eficiencias de recuperación de *E. coli* de dedo utilizando el método de hisopo y un método de elución directa descrito por Ansari *et al.* (41) y se observaron eficiencias comparables (datos no mostrados). El método de hisopo fue seleccionado en el presente estudio, ya que es más sencillo y menos mano de obra que el método de elución directa. Aunque un método de elución directa puede ser más eficiente en la recuperación de microbios de fómites porosos (44, 52, 53), se utilizó el método hisopo para todos los fómites no porosas y porosas con el fin de hacer que el método de recuperación consistente para influir en la eficacia de la transferencia, con superficies no porosas que tiene una mayor eficiencia de transferencia de superficies porosas. Los resultados de nuestro estudio son beneficiosos para las industrias que se centran en el control de infecciones y prevención, así como el campo académico de la salud pública, proporcionando fomite-dedo a eficiencias de transferencia como valores de entrada para la evaluación de la exposición en los modelos QMRA.

Rusin, Maxwell y Gerba, (2002)

Comparative Surface to hand and finger tip-to-mouth transfer efficiency of grampositive bacteria, gramnegative bacteria, and phage

Para determinar la eficacia de la transferencia de microorganismos de fómites a las manos y la posterior transferencia de la yema del dedo al labio.

a través de todos los tipos de superficies (fómites y dedos).

Personas voluntarias prestaron sus manos las cuales se muestrearon después de que el uso normal de fómites siembra con un cultivo reunido de una bacteria Gram-positiva (*Micrococcus luteus*), una bacteria Gram-negativa (*rubidea Serratia*) y el fago PRD-1 (Período A). Las actividades incluyeron escurriendo un trapo / esponja, encender / apagar un grifo de la cocina, cortando una zanahoria, haciendo hamburguesas, que sostiene un receptor de teléfono y sacar la ropa de la lavadora. Eficiencias de transferencia eran 38 · 47% a 65 · 80% y 27 · 59% a 40 · 03% para el receptor del teléfono y el grifo, respectivamente. Eficie

La tasa más alta de transferencia de bacterias de fómites a las manos se observó con las superficies duras, no porosas. Incluso con bajas tasas de transferencia, el número de bacterias transferidas a las manos estaba siendo alta (hasta 10⁶ células). Transferencia de bacterias desde la punta del dedo para el labio es similar a la observada de las superficies duras a las manos.

Importancia e Impacto del estudio: dosis infecciosas de los patógenos pueden ser transferidos a la boca después de tocar un objeto contaminado hogar todos los días.

ncias de transferencia de f6mites porosas fueron $<0 \cdot 01\%$. En la mayor1a de los casos, *M. luteus* se transfiri6 m1s eficientemente, seguido por el fago PRD-1 y *S. rubidea*. Cuando los dedos de los voluntarios se inocularon con los organismos agruparon y se llevan a cabo para la zona de los labios (Per1odo B), la transferencia de las tasas de $40 \cdot 99\%$, $33 \cdot 97\%$, y $33 \cdot 90\%$ se produjo con *M. luteus*, *S. rubidea*, y PRD-1, respectivamente.

Cuadro 2 Referente nivel nacional

AUTOR Y AÑO	TÍTULO	OBJETIVOS	METODOLOGÍA	CONCLUSIONES
Betancur, Estrada, Ceballos, Sánchez, Abad, Vanegas y Salazar, 2010	Billetes como fómites de bacterias con potencial patógeno para el hombre	Determinar la presencia y el tipo de contaminación bacteriana en los billetes circulantes en Medellín.	Se seleccionaron 101 billetes para análisis microbiológico. Dicho análisis consistió en el aislamiento de la microbiota bacteriana presente en ambas superficies de los billetes, empleando la técnica del hisopo y siembra en aislamiento en agar sangre y en agar MacConkey, así como la clasificación taxonómica de los aislamientos obtenidos.	<p>En este trabajo se encontró que el 91,1% de los billetes presentaba contaminación bacteriana, de la cual, el 41,9% estaba representada por bacterias con potencial patógeno para el hombre. De éstas, 22 aislamientos (17,7%) correspondieron a bacterias cuyo origen era posiblemente entérico.</p> <p>Es claro que los billetes son uno de los elementos de mayor circulación en el mundo y que su papel como posibles fómites ha sido documentado por nuestro trabajo. Esto nos avala para reforzar la idea de la importancia del lavado de manos después de tocar un billete, así como su adecuada manipulación y almacenamiento cuando entren en contacto con nosotros.</p>

1.6 Materiales y métodos

1.6.1 Materiales

Cajas de Petri desechables, asas bacteriológicas curva y recta, tubos de vidrios estériles, Beaker, Erlenmeyer, probeta, agitador magnético con calentamiento, balanza analítica, cabina de flujo laminar, incubadora, microscopio óptico, pipeta Pasteur, láminas portaobjetos, mechero de Bunsen, autoclave, hisopos estériles, nevera

1.6.2 Reactivos

1.6.2.1 Pruebas microbiológicas

Medios de cultivo agar nutritivo, agar TSI, agar Citrato de Simmons, agar base sangre, agar EMB, caldo nitrato, agar MacConkey, agar SS, agar SIM, agar LIA, agar agar MIO, agar manitol salado, agar Mueller Hinton, caldo nutritivo, caldo tioglicolato, caldo tripticasa soya, caldo úrea; tinción de Gram, reactivo de Kovac's, solución salina estéril, sensidiscos (novobiocina y bacitracina).

1.6.2.2 Pruebas moleculares

Extracción de ADN

Gel de agarosa al 2%, espectrofotómetro nanodrop 2000 ThermoScientific (USA), marcador de peso molecular (*Low DNA MassLadder*), amortiguador TE (100 mM Tris-HCl pH 8.0, 50 mM EDTA pH 7.0), transiluminador de UV, equipo foto-documentador (*E-Gel Imager gel documentationsystem (Invitrogen - Thermo Fisher Scientific)*).

1.7 Metodología

Este estudio fue de carácter cuantitativo, descriptivo y diseño de la investigación experimental en donde se aislaron y caracterizaron las bacterias presentes en los pasamanos, silletería, ventanas y timbre de buses de transporte público de la ciudad de Neiva-Huila, que pueden estar asociadas a la transmisión de enfermedades. La metodología constó de tres fases:

1.7.1 Fase de campo

1.7.1.1 Área de estudio

El muestreo se realizó de forma aleatoria, involucrando las empresas de transporte público que prestan servicio en la ciudad de Neiva; entre ellas están Coomotor, Cootranshuila, FlotaHuila, Cootransneiva y Autobuses S.A., cubriendo gran parte de las zonas de mayor afluencia de pasajeros. Inicialmente, se escogieron los puntos de muestreo mediante observaciones directas que permitieron establecer cuáles serían los sitios de interés, en este caso se tomaron cuatro puntos correspondientes a:

Centro de la ciudad, carrera segunda: Alta movilización de personas y comercialización; conecta la ciudad de norte a sur.

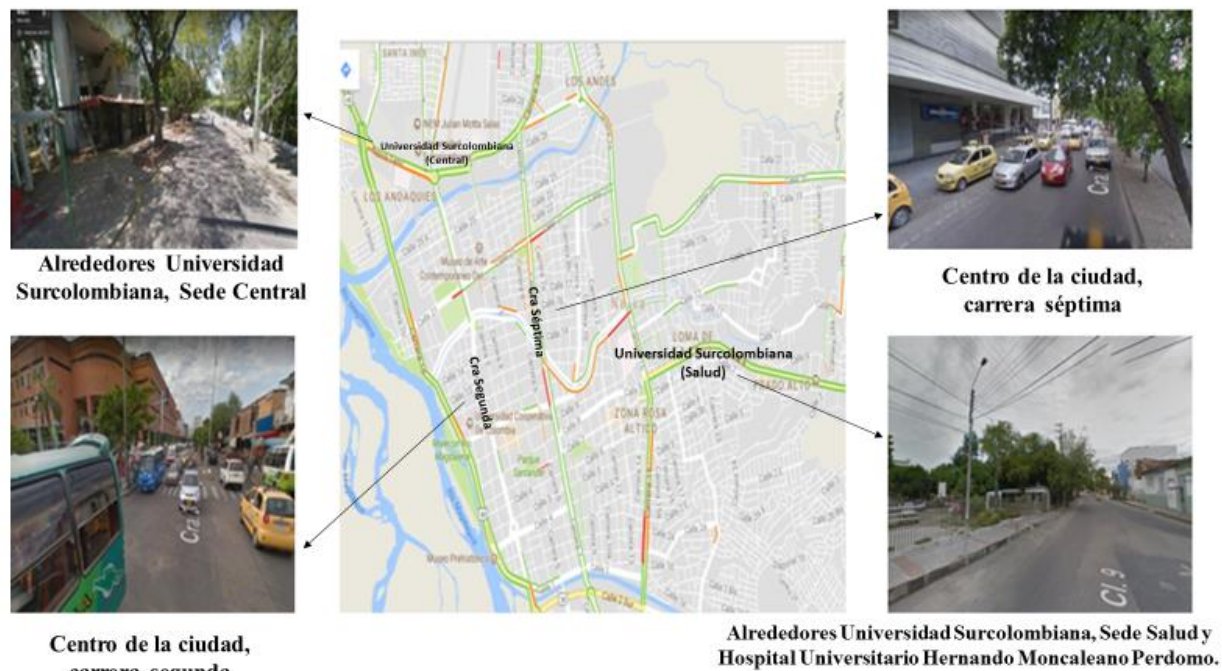
Centro de la ciudad, carrera séptima: Mayor afluencia de pasajeros y zona de algunos centros hospitalarios.

Alrededores Universidad Surcolombiana, Sede Central: Comprendiendo la Zona Norte, punto de encuentro colectivo de estudiantes de la Universidad y colegios aledaños.

Alrededores Universidad Surcolombiana, Sede Salud y Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo.

Para determinar la jornada de toma de muestras, se realizó un conteo de los usuarios en algunos puntos de referencia en un lapso de 45 minutos en tres horarios diferentes, los que correspondieron

a la jornada de la mañana entre 6:00 y 8:00 am, tarde entre 1:00 y 3:00 pm y noche entre 6:00 y 8:00 pm, lo cual permitió comparar la relación entre el horario de uso y la cantidad de personas que hacen uso del servicio.



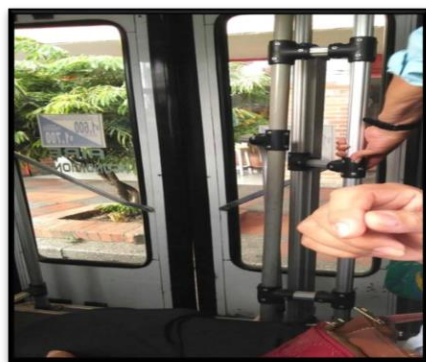
Fuente: map data@2016 google

Figura 1. Área de estudio

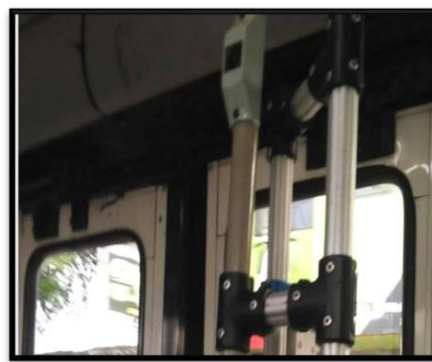


Fuente: Google imágenes

Figura 2. Empresas de transporte evaluadas



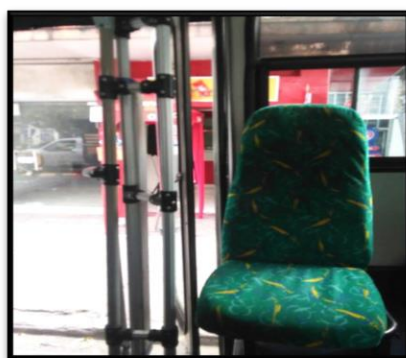
A



B



C



D

Figura 3 Superficies muestreadas A. Pasamanos, B. Timbre, C. Ventana, D. Silla

1.7.2 Muestreo

En el mes de Mayo de 2016 se realizó un muestreo preliminar de tres buses, se tuvo en cuenta el número de aislamientos por cada superficie muestreada (ventana, silla, timbre y pasamanos) para estimar el número de vehículos a muestrear posteriormente. Así, el primer y segundo muestreo que se llevaron a cabo en los meses de agosto de 2016 y abril de 2017, abarcaron un total de 7 vehículos por muestreo, ya que un número mayor excedía la capacidad de las muestras que se pueden procesar en el laboratorio, sumando así un total de 17 vehículos en todo el estudio.

La toma de muestras se realizó mediante la técnica de hisopado, descrita en Alarcón y Olivas (2004), que consiste en un barrido de las superficies haciendo uso de un hisopo estéril humedecido

en una solución diluyente; para este caso, fue solución salina estéril. Las superficies a evaluar están comprendidas por silletería, ventanas, tubo de pasamanos y timbre de los buses seleccionados aleatoriamente. Las muestras fueron transportadas dentro del menor tiempo posible al Laboratorio de Biodiversidad molecular y Citogenética de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Surcolombiana, con una adecuada refrigeración en tubos de ensayo que contenían caldo nutritivo y luego se sembraron en agar nutritivo por la técnica de hisopado (Alonso y Poveda, 2008) con posterior incubación a 37°C durante 24 horas.

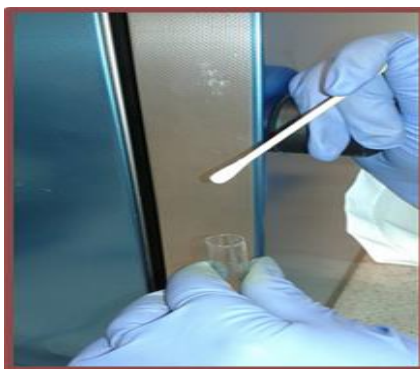


Figura 4. Toma de muestra con hisopo estéril

1.7.3 Fase de laboratorio

Obtenidos los cultivos se realizó el recuento de las unidades formadoras de colonias en cada placa (UFC/placa) haciendo uso del recuento estándar, realizando su respectiva descripción morfológica a nivel de colonia; a cada morfotipo aislado se le designó un código que permitió identificarlo, así:

Tabla 1. Superficies vs símbolo

Superficie	Símbolo
Ventana	V
Timbre	T
Silla	S
Pasamanos	P

- Los morfotipos se designaron con la letra M y el número correspondiente (1,2,3...n)
- Los buses se designaron con la letra B

Ejemplo en cada muestreo:

- ✓ **Muestreo preliminar:** El código VB1 M1 significa Ventana Bus uno, morfotipo uno
- ✓ **Primer muestreo:** El código 1TB1 M1 denota muestreo uno timbre del bus uno, morfotipo

uno

- ✓ **Segundo muestreo:** El código 2SB1 M1 significa muestreo dos sillas del bus uno, morfotipo uno

1.7.3.1 Descripción de la morfología de colonia

Se realizó una descripción de la morfología de colonia de cada uno de los morfotipos aislados para su posterior identificación, teniendo en cuenta características fenotípicas como la forma, elevación, borde, superficie, densidad, color y diámetro, los cuales son necesarios para la identificación y diferenciación bacteriana, (Forbes, Sahm y Weissfeld, 2009). Estos datos fueron recopilados para cada morfotipo aislado (Anexo D).

1.7.3.2 Descripción de la morfología celular

Cada morfotipo aislado de las distintas superficies se sembró en agar nutritivo mediante la técnica de agotamiento por estrías con el fin de obtener cultivos puros (Forbes, Sahm y Weissfeld, 2009), la cual se trata de un método rápido en el que, mediante un agotamiento progresivo y continuo del inóculo, se proporciona un crecimiento confluyente que finalmente deriva colonias bien aisladas al terminar las últimas estrías (Negroni, 2009).

De cada cultivo puro se realizó la descripción de la morfología celular por medio de la tinción de Gram clasificando las bacterias en cuatro grupos: cocos grampositivos, cocos gramnegativos, bacilos grampositivos (esporulados y no esporulados) y bacilos gramnegativos (Ver Anexo E)

La identificación de los microorganismos clasificados se basó en pruebas bioquímicas, tanto para cocos como para bacilos se realizaron pruebas iniciales como catalasa, manitol, Tioglicolato y oxidasa; mientras que para la diferenciación de las especies del género *Staphylococcus* y *Micrococcus* se llevaron a cabo pruebas como coagulasa y resistencia a antibióticos como Bacitracina y Novobiocina, respectivamente. Entre las pruebas para la identificación de bacilos grampositivos y gramnegativos se incluyeron citrato, SIM, ureasa, reducción de nitratos, MIO y LIA, dependiendo del género a evaluar. La confirmación de los bacilos gramnegativos se realizó en agar MacConkey y en el caso de los bacilos y cocos grampositivos se sembró en agar sangre con incubación a 37°C durante 24 horas. Para la confirmación de géneros de la familia *Enterobacteriaceae* se realizaron siembras en agar EMB, mientras que para revelar la producción de piocianinas (pigmentos propios) del género *Pseudomonas* spp. se utilizó agar Mueller Hinton (Merino, 2007). Los resultados se analizaron por medio del Manual de Bergey (Holt, Krieg, Sneath, Staley y Williams, 1994).

La determinación de algunas bacterias de interés se determinó por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa PCR evaluando dos primer's uno 16s rRNA y una región ITS entre la región 23s y 16S bacteriano mediante pruebas de Biología molecular.

1.7.4 Fase biología molecular

1.7.4.1 Extracción de ADN a partir de cultivos puros

Según el método de Martin Platero se suspendió una asada de los cultivos puros con 24 horas de crecimiento en agar nutritivo en 100 µl de tampón TE (Sacarosa 10%, 25 mM Tris-HCl pH 8.0, 1 mM EDTA, 10 mg/ml lisozima recién preparada y 40 µg/ml de RNasa A), con incubación a 37°C por 30 minutos. Inmediatamente, se añadieron 600 µl de tampón de lisis (100 mM Tris-HCl pH 8.0, 100 mM EDTA, 10 mM NaCl y 1% w/v de SDS), dejando a temperatura ambiente por 15 minutos. Posteriormente, se adicionó 10 mg/ml de proteinasa k y se incubó cada muestra 15 minutos a 37°C; luego una incubación por 5 minutos a 80°C, se dejó a temperatura ambiente por 10 minutos y se agregó 200 µl de acetato de sodio (3M, pH 5,2). Inmediatamente se enfrió en hielo por 15 minutos; después, se centrifugó por 10 minutos a 600 rpm. Se descartó el sobrenadante y se añadieron 600 µl de isopropanol frío; finalmente, se centrifugó y se dejó secar el alcohol para hidratar el ADN con TE (tris-HCL 10 mM; EDTA 1 mM pH 8,0) y se mantuvo a - 20°C para los estudios posteriores. La cuantificación del ADN se realizó utilizando un *THERMO A CIENTIFIC NANODROP 2000* disponible en el Laboratorio de Biodiversidad molecular y Citogenética de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Surcolombiana; de cada muestra se obtuvo una cantidad aproximadamente de 10 - 1000 ng/µl de DNA. (Ver Anexo G)

1.7.4.2 Amplificación de genes rRNA 16S y región espaciadora ITS por PCR

La amplificación por PCR se realizó utilizando un fragmento del gen 16S rRNA de 440 pb perteneciente a las posiciones 930 a 1370 de *Escherichia coli* y la secuencia de la región interna transcrita (ITS) que se encuentra entre los genes 16S rRNA y 23S rRNA de 990 pb.

La amplificación del fragmento de la secuencia del gen 16S rRNA se llevó a cabo utilizando los *primer's* 91E 5' -GGAATTCAAAGKAATTGACGGGGGC-3' y 13B 5'-CGGGATCCCAGGCCCGGGAACGTATTCAC-3' (Mignard y Flandrois, 2006), mientras que para la región ITS, se utilizó los *primer's* 43^a 5'- GGATGTTGGCTTAGAAGCAG- 3' *forward*, 69ar 5'-CTTAGGACCGTTATAGTTAC-*reverse* (Man, Kaakoush, Octavia y Mitchell, 2010).

La PCR se realizó en un termociclador *MultiGene OptiMax Thermal Cycler* y consistió para ambas secuencias en la preparación de un *Mix* con un volumen final de 30 µl en el cual se agregaron: tampón 1x (Tris-HCl 200 mM, pH 8.4 y KCl 500 mM), 1.5 mM MgCl₂, 0.25 mM de dNTPs (dATP, dGTP, dCTP y dTTP), 10 pmol de cada *primer's*, 50 ng de ADN y 0.5 U Taq polimerasa (Invitrogen Life Technologies). La reacción para el gen 16S rRNA consistió en una desnaturalización inicial a 94° C por 4 minutos, luego 40 ciclos de 95°C 1 minuto, 55°C 1 minuto, 72°C 1,5 minutos y finalmente una temperatura de extensión de 72°C por 5 minutos; mientras que, para la región ITS se programó una temperatura inicial de 94°C 5 minutos, seguida de 40 ciclos de 94°C a 20 segundos, 52°C a 20 segundos, 72°C 2 minutos y una temperatura de extensión 72°C 7 minutos.

Terminada la amplificación los amplicones se visualizaron por medio de la técnica de electroforesis, para la cual se preparó un gel de agarosa al 2% en el cual se suspendió 2 µl de cada muestra con ayuda de 1 µl de cargador molecular para cada una y se expuso a 90 Volts por 1 h y 30 min, se suspendió 5 µl hyperLadder de 100 pb Bioline para determinar que los tamaños de las

secuencias amplificadas fueran los adecuados. Luego, se llevó a cabo la observación del gel en el fotodocumentador E-Gel Imager System life technologies y se tomó el registro fotográfico de los resultados.

1.7.4.3 Purificación y secuenciación

Después de comprobar la amplificación de las secuencias de interés del fragmento del gen 16S rRNA de 440 pb y la secuencia de la región interna transcrita (ITS) de 990 pb., se llevó a cabo la purificación del ADN suspendiendo 28 μ l de la muestra y una misma cantidad de PEG 20% (polietilenglicol 6000-7000 10% y 2,5 M NaCl) y 2 μ l de azul. Se incubó a 37 °C por 15 minutos y se centrifugó a 13.000 rpm por 15 minutos. Se descartó el sobrenadante y se adicionó 125 μ l de etanol al 80% frío. Luego, se centrifugó a 13.000 rpm por 2 minutos, se descartó el sobrenadante, haciendo una segunda repetición de este último paso. Posteriormente, se incubó a 37°C en un termobloque por 40 min y se rehidrató con 15 μ l de agua tipo 1 (ultra-pura) (MQ) (Sambrook *et al.*, 1989). La visualización de los amplicones se llevó a cabo mediante la técnica de electroforesis en las mismas condiciones descritas anteriormente. Todos los productos de PCR fueron secuenciados por la empresa MACROGEN Inc. Seoul, Korea del Sur. (<http://www.macrogen.com>).

1.7.4.4 Verificación visual y alineación

Con la región ITS se amplificaron y purificaron un total de 12 muestras y con el gen ribosomal bacteriano 16S rRNA de 440 pb se amplificaron y se purificaron un total de 4 muestras, cada una de ellas fueron verificadas y alineadas en el *software* Bioedit (Hall, T.A. 1999). Las secuencias que mostraron picos superpuestos fueron corregidas manualmente por medio del *Software* del secuenciador. Una vez eliminadas las secuencias que podrían generar un resultado dudoso, se introdujo cada una de las secuencias en el programa BLAST assembled genomes, con el cual se

buscan secuencias que sean similares en distintos genomas que ya han sido secuenciados y registrados.

1.7.5 Análisis estadístico

Mediante el programa PAST (Hammer *et al.*, 2001), se realizó el cálculo de varianza F a partir del método ANOVA de un factor, para determinar la significancia de los resultados obtenidos en el recuento de UFC/placa de cada una de las superficies muestreadas. A partir de los datos obtenidos en la identificación de géneros y especies se realizó una matriz de abundancia con base en el número de individuos para cada una de las superficies muestreadas. Por medio de ésta se calculó el índice de diversidad de Shannon - Wiener el cual expresa la uniformidad de los valores de importancia a través de todas las especies en cada uno de los muestreos.

El índice refleja la heterogeneidad de una comunidad sobre la base de dos factores: el número de especies presentes (riqueza) y su abundancia relativa (equitabilidad de Pielou), (Magurran, 1989) a través del programa PAST (Hammer *et al.*, 2001). Además, se utilizó el Índice de Yadav y Madeline para determinar la distribución relativa (frecuencia de aparición) de los géneros y especies bacterianos (Villafañe, 2009)

1.7.6. Fase de divulgación

Los resultados de este proyecto se han socializado con estudiantes de la Universidad Surcolombiana, de la Corporación Universitaria del Huila “Corhuila” y de algunos centros educativos, por medio de la participación en Congresos. A través del diseño de una cartilla se expone los hábitos de higiene preventivos que deben tener las personas que hacen uso del servicio de transporte público en la ciudad de Neiva.

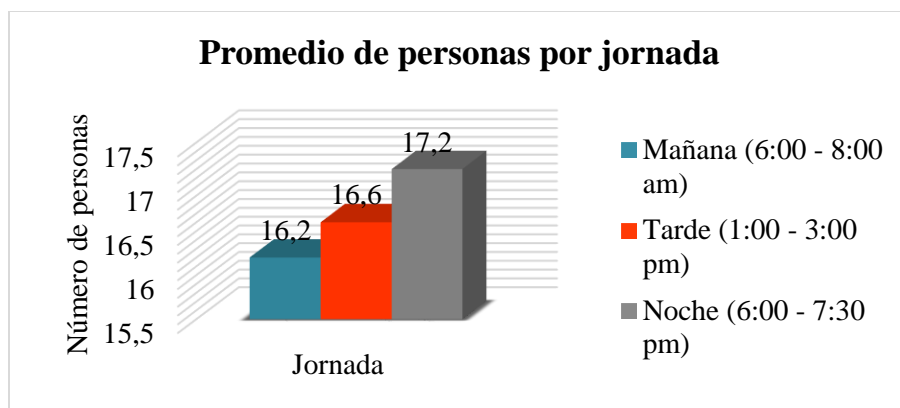
1.8 Desarrollo Del Proyecto

1.8.1 Flujo de personas en tres jornadas diferentes del día

De acuerdo al flujo de personas que se muestra en la Tabla 2, se determinó que cada 45 minutos en el horario de la mañana (6:00 a 8:00 am) el promedio de personas que hacen uso de este transporte es de 16,2 por autobús, para la jornada de la tarde (1:00 a 3:00 pm) se estimó un promedio de 16,6 personas y en la jornada de la noche (6:00 a 7:30 pm) de 17,2 pasajeros por autobús. Con la información anterior, se estableció que el número de pasajeros en los horarios establecidos es similar, así que la toma de muestras podría llevarse a cabo en cualquiera de las tres jornadas. Para este estudio se escogió el horario de la tarde.

Tabla 2. *Número de personas por autobús en un lapso de 45 minutos en tres jornadas diferentes del día*

Número de personas en jornada			
Bus	Mañana (6:00 - 8:00 am)	Tarde (1:00 - 3:00 pm)	Noche (6:00 - 7:30 pm)
1	18	15	18
2	10	18	19
3	19	17	20
4	14	21	16
5	20	12	13
Promedio	16,2	16,6	17,2



Gráfica 1. Número de personas en lapsos de 45 minutos en tres horarios diferentes del día

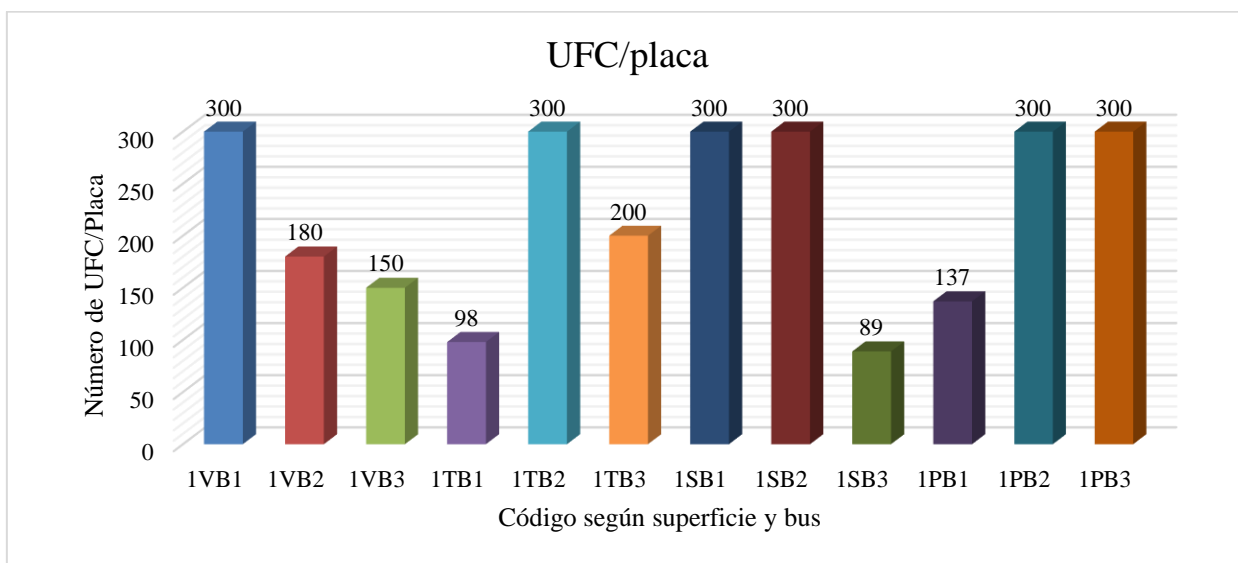
1.8.2 Recuento de unidades formadoras de colonia por placa (UFC/placa) y morfotipos aislados

En la Tabla 3 se presenta el número de unidades formadoras de colonia (UFC) y de morfotipos aislados por placa en cada uno de los buses escogidos y para cada uno de los tres muestreos. La selección de los morfotipos se realizó teniendo en cuenta las características morfológicas de cada colonia. (Ver Anexo D)

Tabla 3. Número de UFC/placa y morfotipos aislados en las superficies de los autobuses durante el muestreo preliminar

Superficie	Bus	Código	Número de	
			UFC/placa	Morfotipos
Ventana	1	1VB1	>300	10
	2	1VB2	180	3
	3	1VB3	150	5
Timbre	1	1TB1	98	3
	2	1TB2	>300	5

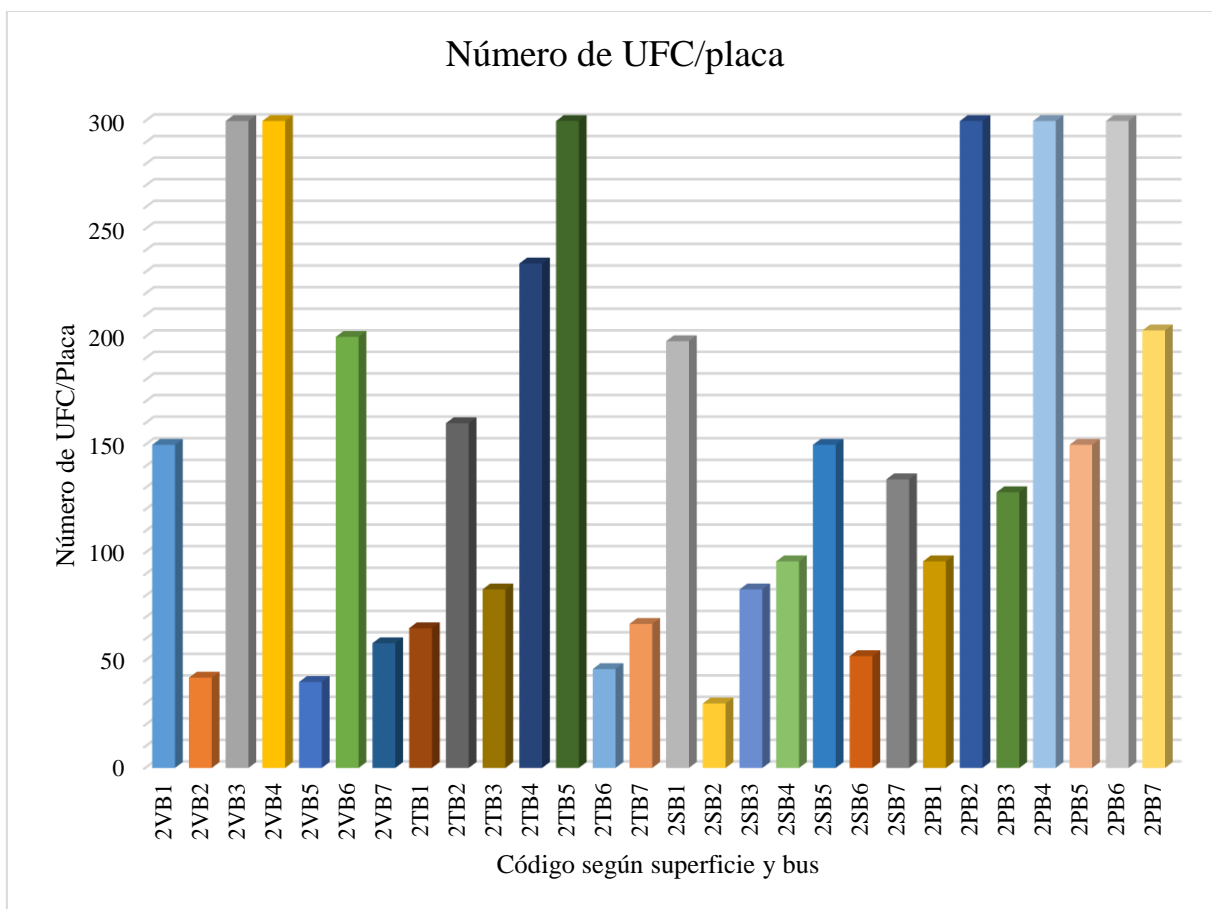
Número de				
Superficie	Bus	Código	UFC/placa	Morfotipos
	3	1TB3	200	2
	1	1SB1	> 300	12
	2	1SB2	> 300	3
Silla	3	1SB3	89	11
	1	1PB1	137	3
	2	1PB2	> 300	4
Pasamanos	3	1PB3	> 300	3



Gráfica 2. Número de UFC/placa durante el muestreo preliminar

Tabla 4. *Número de UFC/placa y morfotipos aislados en las superficies de los autobuses durante el primer muestreo*

Superficie	Bus	Código	Número de UFC/placa	Morfotipo
Ventana	1	2VB1	150	3
	2	2VB2	42	1
	3	2VB3	> 300	5
	4	2VB4	>300	10
	5	2VB5	40	6
	6	2VB6	200	3
	7	2VB7	58	4
Timbre	1	2TB1	65	2
	2	2TB2	160	4
	3	2TB3	83	3
	4	2TB4	234	3
	5	2TB5	>300	2
	6	2TB6	46	1
	7	2TB7	67	7
Silla	1	2SB1	198	3
	2	2SB2	30	6
	3	2SB3	83	6
	4	2SB4	96	6
	5	2SB5	150	4
	6	2SB6	52	6
	7	2SB7	134	5
Pasamanos	1	2PB1	96	3
	2	2PB2	>300	3
	3	2PB3	128	5
	4	2PB4	>300	4
	5	2PB5	150	4
	6	2PB6	>300	2
	7	2PB7	203	6

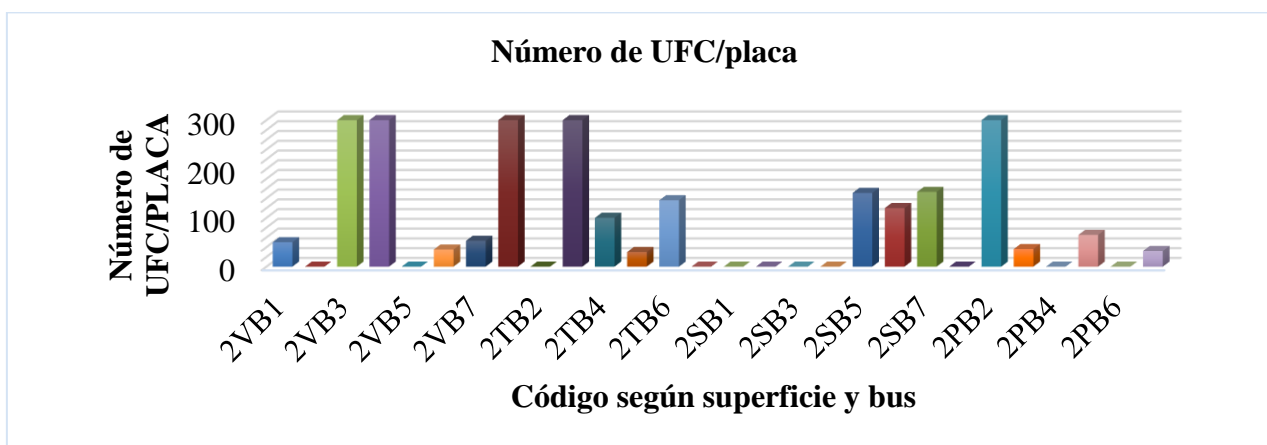


Gráfica 3. Número de UFC/placa durante el primer muestreo

Tabla 5. Número de UFC/placa y morfotipos aislados en las superficies de los autobuses durante el segundo muestreo

Superficie	Bus	Códigos	Número de UFC/placa	Morfotipos
Ventana	1	2VB1	50	5
	2	2VB2	205	5
	3	2VB3	>300	7
	4	2VB4	>300	6
	5	2VB5	Crecimiento difuso	9
	6	2VB6	35	5
	7	2VB7	53	5

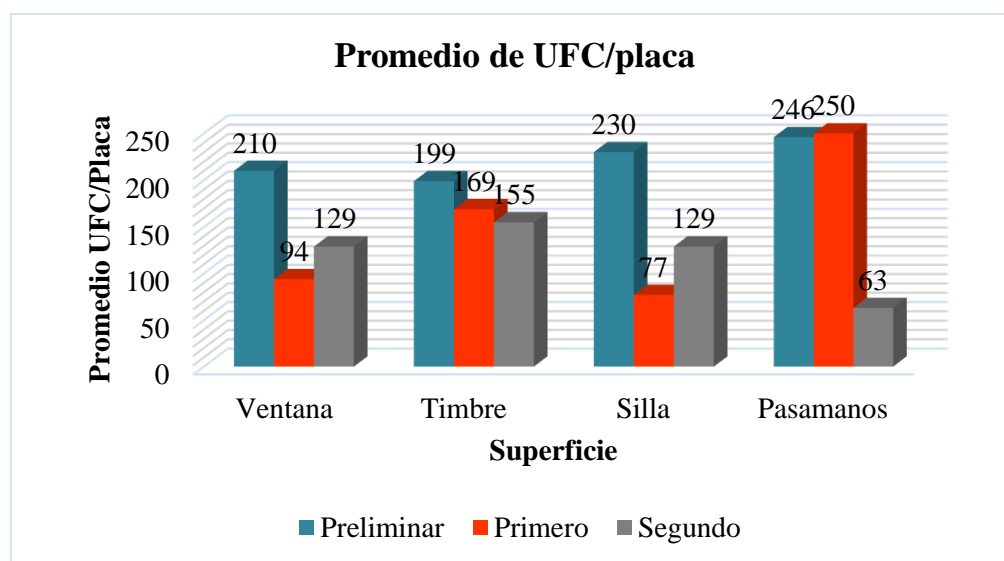
Superficie	Bus	Códigos	Número de UFC/placa	Morfotipos
Timbre	1	2TB1	>300	3
	2	2TB2	Crecimiento difuso	5
	3	2TB3	>300	4
	4	2TB4	100	5
	5	2TB5	33	6
	6	2TB6	136	5
	7	2TB7	Crecimiento difuso	1
Silla	1	2SB1	56	4
	2	2SB2	Crecimiento difuso	2
	3	2SB3	115	3
	4	2SB4	Crecimiento difuso	4
	5	2SB5	151	4
	6	2SB6	120	5
	7	2SB7	153	6
Pasamanos	1	2PB1	Crecimiento difuso	2
	2	2PB2	>300	4
	3	2PB3	36	2
	4	2PB4	Crecimiento difuso	4
	5	2PB5	65	4
	6	2PB6	120	7
	7	2PB7	32	1



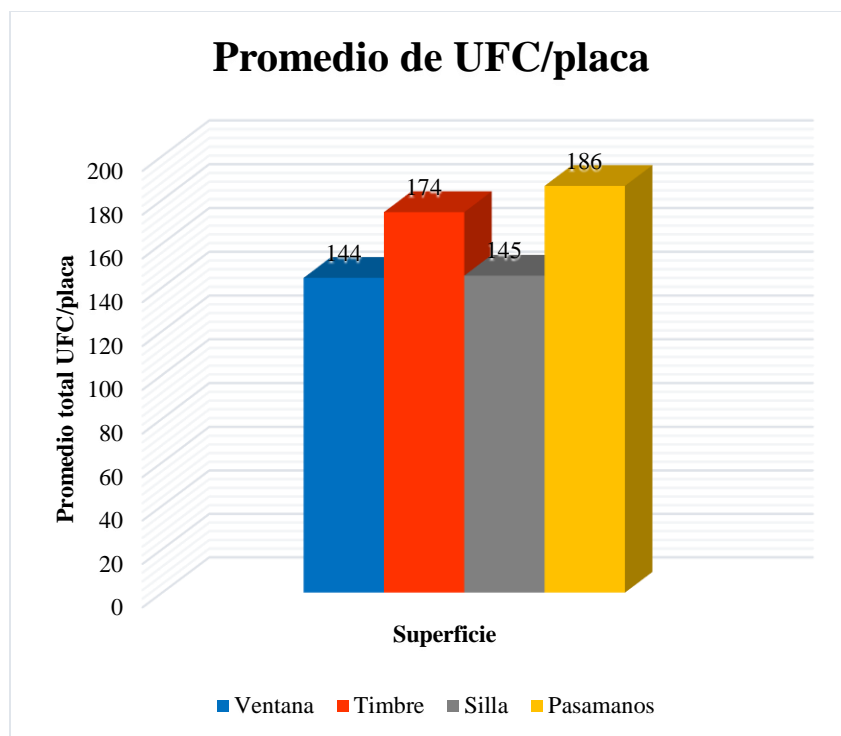
Gráfica 4. Número de UFC/placa durante el segundo muestreo

Tabla 6. Promedio de UFC/placa en cada superficie según los muestreos preliminar, primero y segundo

Promedio de UFC/Placa				
Superficie	Preliminar	Primero	Segundo	Promedio Total
Ventana	210	94	129	144
Timbre	199	169	155	174
Silla	230	77	129	145
Pasamanos	246	250	63	186



Gráfica 5. Promedio de UFC/placa en cada superficie según los diferentes muestreos



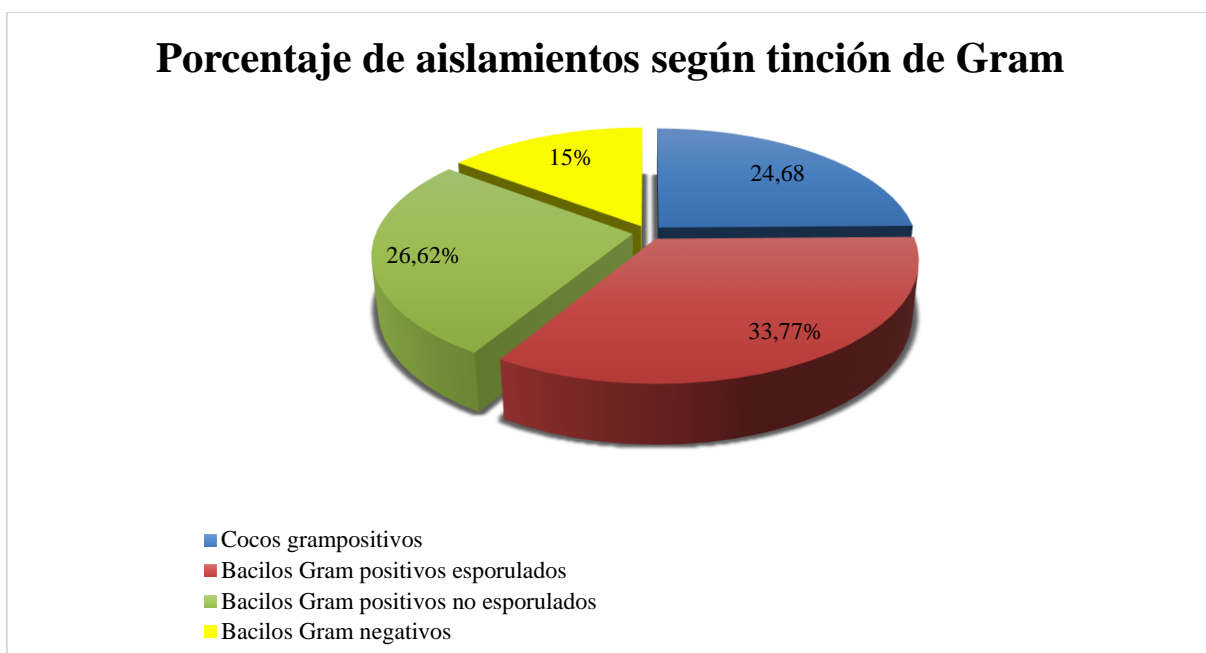
Gráfica 6. Promedio total de UFC/placa en cada superficie

1.8.3 Morfología según tinción de Gram.

De las 68 superficies estudiadas durante los tres muestreos, se obtuvo un total de 308 aislamientos. De éstos, la morfología más frecuente correspondió a bacilos grampositivos esporulados (33,77%), mientras que los cocos grampositivos y bacilos grampositivos no esporulados se encontraron con una frecuencia de 24,68% y 26,62%, respectivamente. Los bacilos gramnegativos se presentaron en menor cantidad en todos los muestreos con un porcentaje final de 15%. (Gráfica 7)

Tabla 7. Número de aislamientos por muestreo según tinción de Gram

Morfología según					Porcentaje
tinción de Gram	Preliminar	Primero	Segundo	Total	%
Cocos grampositivos	17	32	27	76	24,68%
Bacilos grampositivos esporulados	16	25	63	104	33,77%
Bacilos grampositivos no esporulados	16	46	20	82	26,62%
Bacilos gramnegativos	15	18	13	46	15%
Total	64	121	123	308	100,00%



Gráfica 7. Porcentaje del número de aislamientos por muestreo según tinción de Gram

1.8.4 Identificación Mediante Pruebas Microbiológicas De Los Morfotipos Aislados

Según La Forma y Agrupación.

Los géneros identificados en los tres muestreos correspondieron a *Staphylococcus*, *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp., *Clostridium* spp., *Corynebacterium* spp., *Listeria* spp., *Lactobacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp. y la especie *Escherichia coli*. Los géneros *Aeromonas* spp. y *Enterobacter* spp. fueron identificados durante el muestreo preliminar y el primer muestreo, mientras que bacterias de los géneros *Pasteurella* spp. y *Shigella* spp se identificaron durante el primer muestreo.

A manera de ejemplo se presenta la identificación de los microorganismos aislados teniendo en cuenta los resultados de las pruebas bioquímicas y en algunos casos las pruebas de sensibilidad a los antibióticos. Para este fin se tuvo en cuenta el Manual de Bergey (Holt, Krieg, Sneath, Staley y Williams, 1994) y el Manual de procedimientos en Bacteriología clínica (Sánchez, 1986). Las tablas completas de la identificación de cada muestreo se encuentran consignadas en (Anexo F)

Tabla 8. *Identificación de cocos grampositivos*

Código	Morfotipo	Catalasa	Oxidasa	Bacitracina	Aerobio	Anaerobio			Coagulasa	Manitol	Hemólisis en Agar sangre	Novobiocina	Microorganismo clasificado
						Facultativo	Estricto	aerotolerante					
VB1	M2	+	-	R	X			+	+	Beta	R	<i>Staphylococcus aureus</i>	
VB1	M5	+	-	R	X			-	-	Alfa	S	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
VB1	M8	+	-	R			X	-	-	Gama	R	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	
VB1	M9	+	+	S	X			+	+	Gama		<i>Micrococcus</i> sp.	

Tabla 9. Identificación de bacilos gramnegativos.

Código	Morfotipo	Catalasa	Aerobio	Anaerobio		Oxidasa	TSI	Citrato	SIM		Manitol	Urea	MIO			LIA		Agar MacConkey	Microorganismo identificado			
				Facultativa	Estricto Aerotolerante				H ₂ S	Motilidad			Indol	Gas	Indol	Ornitina	movilidad 25°C			descarboxilación	desaminación	H ₂ S
																			Descripción			
1VB1	M7	+		X	-	A/A	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>E. coli</i>
1VB1	M10	+		X	+	A/A	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>Aeromonas sp.</i>	
1TB1	M2	+		X	+	K/K	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	Colonias incoloras, transparentes, hay viraje del medio	<i>Pseudomonas sp.</i>	
1TB3	M2	+		X	-	A/A	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	Rosado con consistencia cremosa	<i>Klebsiella sp.</i>	

Código	Morfotipo	Catalasa	Aerobio	Anaerobio			TSI	Citrato	SIM				Urea	MIO			LIA	Agar MacConkey		Microorganismo identificado	
				Facultativa	Estricto	aerotolerante			Oxidasa	H ₂ S	Motilidad	Indol		Manitol	Gas	Indol	Ornitina	movilidad 25°C	descarboxilación		desaminación
1PB3	M3	+		X	-	A/A	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	Colonias color blanco viraje del medio a amarillo	<i>Enterobacter</i>
2SB1	M3				X	-	K/K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>Shigella</i> sp
2VB4	M7	+		X	+	A/A	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	Crecimiento irregular	<i>Pasteurella</i> sp.

Tabla 10. *Identificación bacilos esporulados*

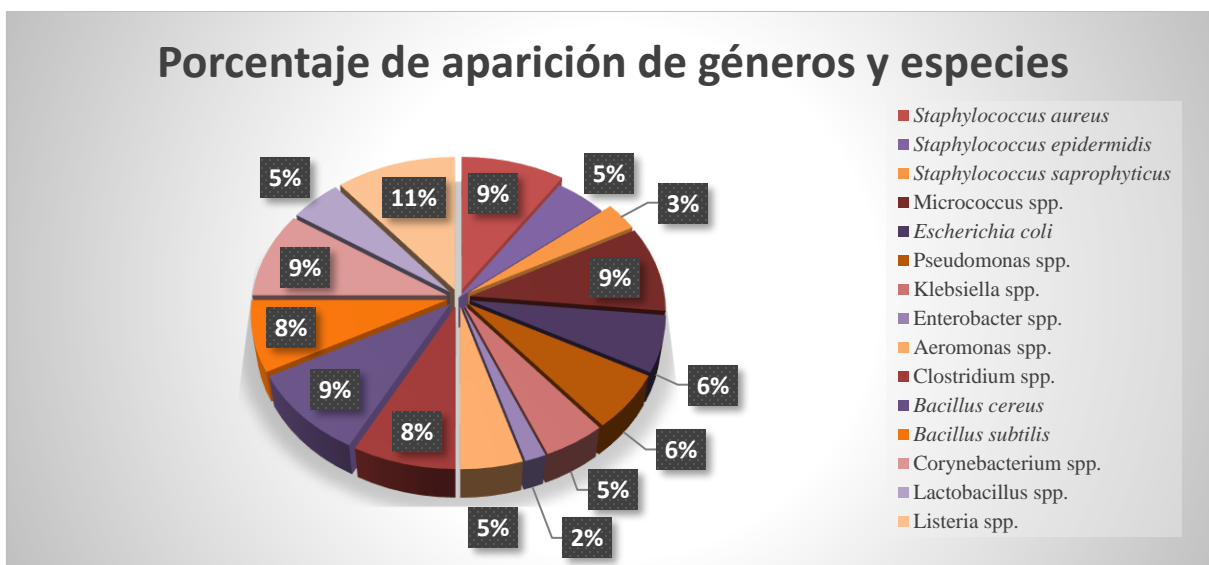
Código	Morfotipo	Muestra	Catalasa	Aerobio	Anaerobio			SIM					Microorganismo identificado	
					Facultativa	Estricto	Aerotolerante	H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Urea		
					TSI	Citrato								
2VB1	M1	1	+		X		A/A	+	-	+	-	-	-	<i>Bacillus cereus</i>
2VB3	M3	7	+			X	K/K	-	-	-	-	-	-	<i>Bacillus coagulans</i>
2VB4	M6	15	+	X			K/K	+	-	+	-	+	-	<i>Bacillus subtilis</i>
2VB6	M1	26	-		X		K/A	-	-	-	-	-	-	<i>Clostridium sp.</i>

Tabla 11. *Bacilos no esporulados*

Código	Morfotipo	Catalasa	Aerobio	Anaerobio			SIM										Microorganismo identificado	
				Facultativa	Estricto	aerotolerante	TSI	Gas	Citrato	H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Urea	Reducción de NO ₃	Oxidasa		Motilidad a 25°C
2VB1	M3	+		X			K/A	-	-	-	-	-	-	-	+	-	Alfa	<i>Corynebacterium sp.</i>
2VB3	M1	-		X			K/A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Alfa	<i>Lactobacillus sp.</i>
2VB3	M4	+		X			A/A	-	-	-	-	-	-	-	-	+	beta	<i>Listeria sp.</i>

Tabla 12. Número de aislamientos por superficie y porcentaje de aparición de los microorganismos identificados durante el muestreo preliminar

Morfología según Tinción de Gram	Clasificación taxonómica	Ventana	Timbre	Silla	Pasamanos	Número de aislamientos	Porcentaje
Cocos grampositivos	<u><i>aureus</i></u>	2	1	2	1	6	9,40%
	<u><i>epidermidis</i></u>	1	1	1	0	3	4,70%
	<u><i>Staphylococcus saprophyticus</i></u>	1	0	1	0	2	3,10%
	<i>Micrococcus</i> spp.	1	2	2	1	6	9,40%
Bacilos gramnegativos	<i>Escherichia coli</i>	2	1	0	1	4	6,20%
	<i>Pseudomonas</i> spp.	0	1	3	0	4	6,20%
	<i>Klebsiella</i> spp.	0	1	1	1	3	4,70%
	<i>Enterobacter</i> spp.	0	0	0	1	1	1,60%
	<i>Aeromonas</i> spp.	1	0	1	1	3	4,70%
Bacilos grampositivos esporulados	<i>Clostridium</i> spp.	1	0	4	0	5	7,80%
	<u><i>cereus</i></u>	3	0	2	1	6	9,40%
Bacilos grampositivos no esporulados	<i>Bacillus subtilis</i>	2	1	1	1	5	7,80%
	<i>Corynebacterium</i> spp.	2	0	3	1	6	9,40%
	<i>Lactobacillus</i> spp.	1	1	1	0	3	4,75%
	<i>Listeria</i> spp.	1	1	4	1	7	10,90%
Total		18	10	26	10	64	100

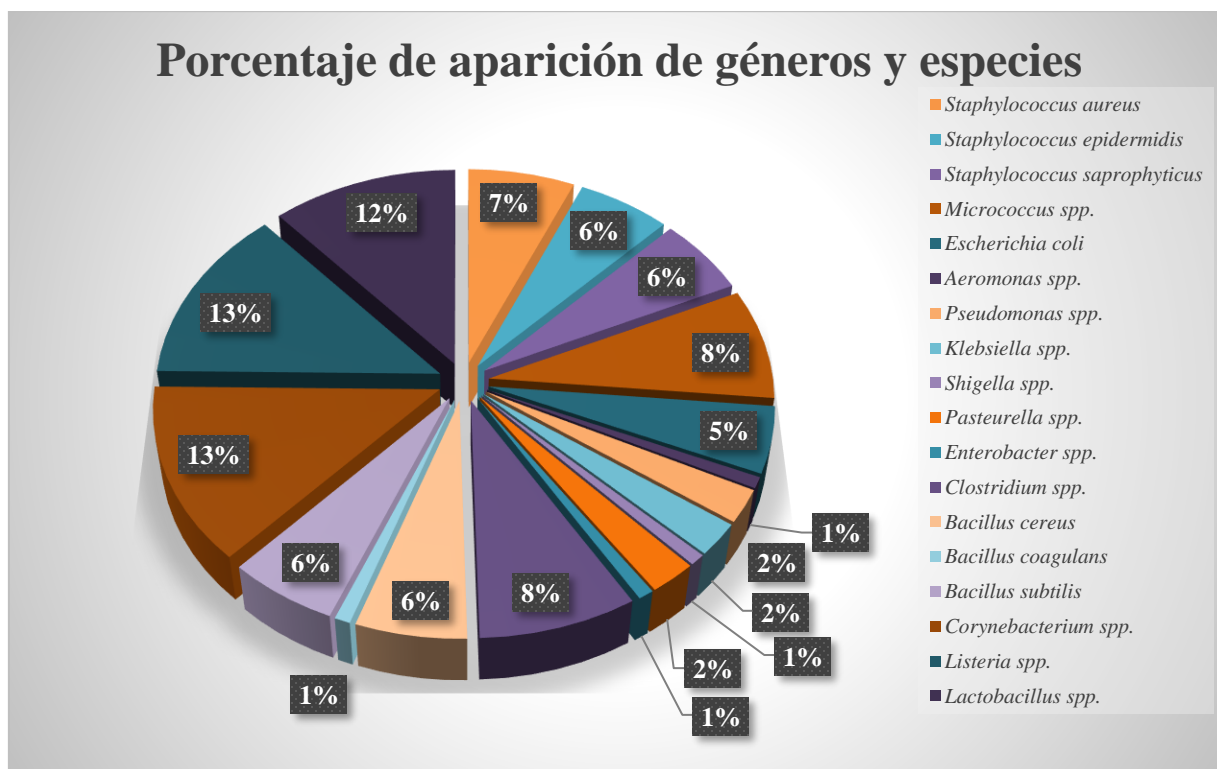


Gráfica 8. Porcentaje de aparición de los microorganismos identificados durante el muestreo preliminar

Tabla 13. Número de aislamientos por superficie y porcentaje de aparición de los microorganismos identificados durante el primer muestreo

Morfología según tinción de Gram	Clasificación taxonómica	Superficie				Número de aislamientos	Porcentaje
		Ventana	Timbre	Silla	Pasamanos		
Cocos grampositivos	<i>Aureus</i>	2	2	2	2	8	6,61%
	<i>epidermidis</i>	2	2	2	1	7	5,79%
	<i>Saprophyticus</i>	1	1	5	0	7	5,79%
Bacilos gramnegativos	<i>Micrococcus spp</i>	3	1	5	1	10	8,26%
	<i>Escherichia Coli</i>	2	2	1	1	6	4,96%
	<i>Aeromonas spp</i>	0	0	0	1	1	0,83%
	<i>Pseudomonas spp</i>	1	0	2	0	3	2,48%
	<i>Klebsiella spp</i>	0	2	1	0	3	2,48%
	<i>Shigella spp.</i>	0	0	1	0	1	0,83%
	<i>Pasteurella spp.</i>	1	2	0	0	3	2,48%
	<i>Enterobacter spp</i>	0	0	0	1	1	0,83%
	<i>Clostridium spp</i>	4	1	2	3	10	8,26%

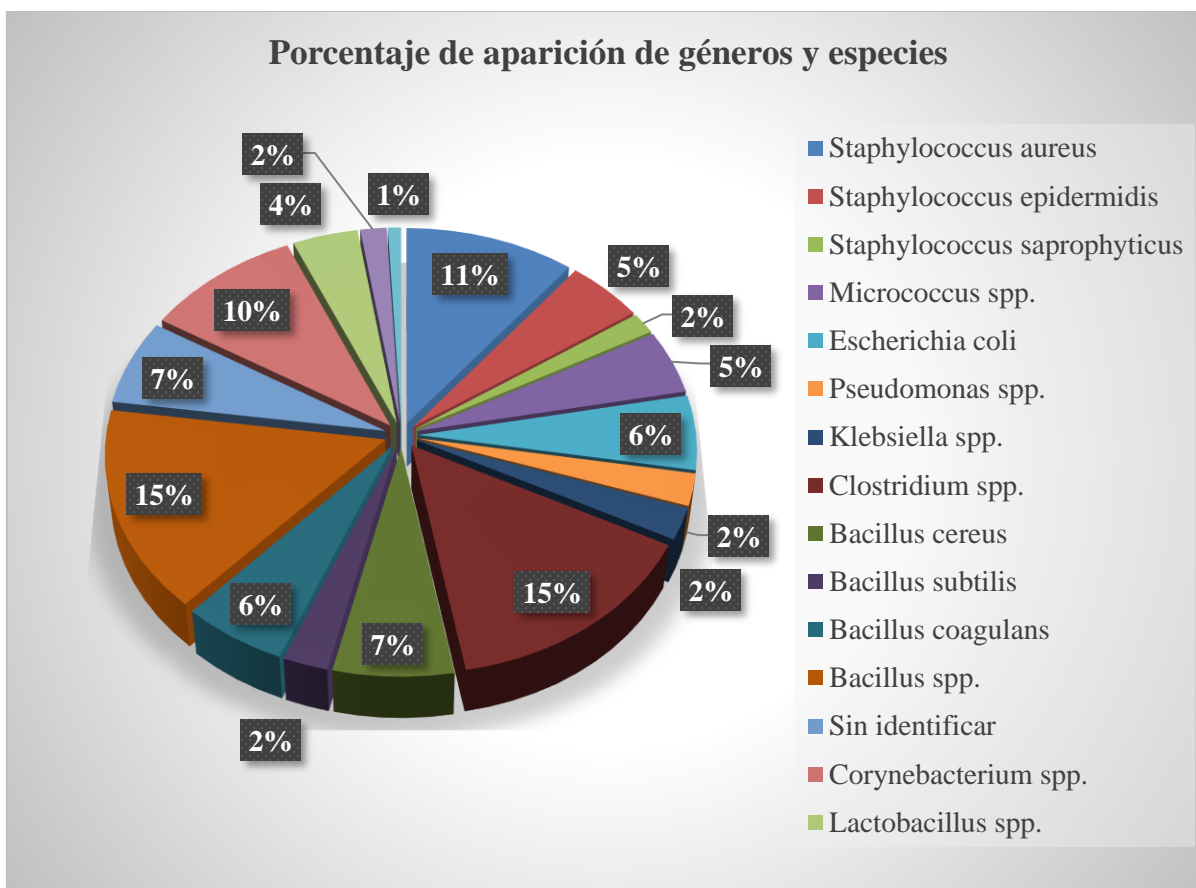
Morfología según tinción de Gram	Clasificación taxonómica		Pasamanos				Número de aislamientos	Porcentaje
			Ventana	Timbre	Silla			
Bacilos grampositivos esporulados	<i>cereus</i>		1	2	3	1	7	5,79%
	<i>coagulans</i>		1	0	0	0	1	0,83%
	<i>Bacillus subtilis</i>		1	1	1	4	7	5,79%
Bacilos grampositivos no esporulados	<i>Corynebacterium</i> spp		6	2	3	5	16	13,22%
	<i>Listeria</i> spp		5	3	5	3	16	13,22%
	<i>Lactobacillus</i> Spp		3	3	4	4	14	11,57%
	Total		33	24	37	27	121	100%



Gráfica 9. Porcentaje de aparición de los microorganismos identificados durante el primer muestreo

Tabla 14. Número de aislamientos por superficie y porcentaje de aparición de los microorganismos identificados durante el segundo muestreo

Morfología según Tinción de Gram	Clasificación taxonómica	Ventana	Timbre	Silla	Pasamanos	Número de aislamientos	Porcentaje
Cocos grampositivos	<u><i>aureus</i></u>	5	2	2	4	13	10,57%
	<u><i>epidermidis</i></u>	3	1	2	0	6	4,88%
	<u><i>Staphylococcus saprophyticus</i></u>	1	1	0	0	2	1,63%
	<i>Micrococcus</i> spp.	3	3	0	0	6	4,88%
Bacilos gramnegativos	<i>Escherichia coli</i>	2	2	0	3	7	5,69%
	<i>Pseudomonas</i> spp.	2	0	0	1	3	2,44%
	<i>Klebsiella</i> spp.	0	1	2	0	3	2,44%
	<i>Clostridium</i> spp.	7	6	0	5	18	14,63%
Bacilos grampositivos esporulados	<u><i>cereus</i></u>	3	3	1	1	8	6,5%
	<u><i>subtilis</i></u>	0	0	1	2	3	2,44%
	<u><i>Bacillus coagulans</i></u>	3	0	4	0	7	5,69%
	<i>Bacillus</i> spp.	3	3	9	4	19	15,45%
Bacilos grampositivos no esporulados	Sin identificar	4	2	1	1	8	6,5%
	<i>Corynebacterium</i> spp.	4	3	5	0	12	9,76%
	<i>Lactobacillus</i> spp.	1	1	0	3	5	4,07%
	<i>Listeria</i> spp.	0	1	1	0	2	1,63%
	Sin identificar	1	0	0	0	1	0,81%
Total		42	29	28	24	123	100%

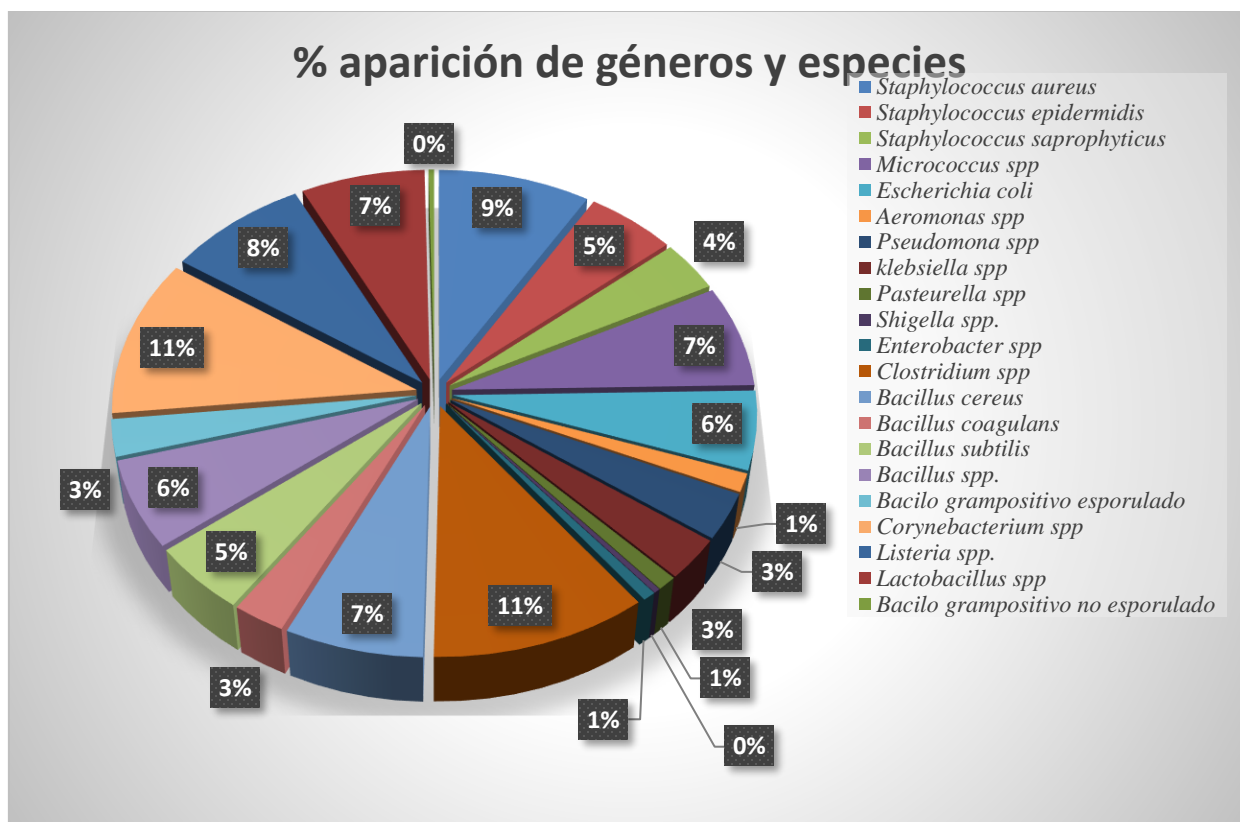


Gráfica 10. Porcentaje de aparición de los microorganismos identificados durante el segundo muestreo

Tabla 15. Número de aislamientos durante el muestreo preliminar, primero y segundo

Morfología según tinción de Gram	Géneros identificados	Muestreo preliminar	Primer muestreo	Segundo muestreo	Número total de aislamientos	Porcentaje
Cocos grampositivos	<i>Staphylococcus aureus</i>	6	8	13	27	8,77%
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	7	6	16	5,19%
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	7	2	11	3,57%
	<i>Micrococcus spp</i>	6	10	6	22	7,14%

Morfología según tinción de Gram	Géneros identificados	Preliminar	Primero	Segundo	Número de aislamientos	Porcentaje
Bacilos gramnegativos	<i>Escherichia coli</i>	4	6	7	17	5,52%
	<i>Aeromonas spp</i>	3	1	-	4	1,30%
	<i>Pseudomona spp</i>	4	3	3	10	3,25%
	<i>klebsiella spp</i>	3	3	3	9	2,92%
	<i>Pasteurella spp</i>	-	3	-	3	0,97%
	<i>Shigella spp.</i>	-	1	-	1	0,32%
	<i>Enterobacter spp</i>	1	1	-	2	0,65%
Bacilos grampositivos esporulados	<i>Clostridium spp</i>	5	10	18	33	10,71%
	<i>Bacillus cereus</i>	6	7	8	21	6,82%
	<i>Bacillus coagulans</i>	-	1	7	8	2,60%
	<i>Bacillus subtilis</i>	5	7	3	15	4,87%
	<i>Bacillus spp.</i>	-	-	19	19	6,17%
	<i>Sin identificar</i>	-	-	8	8	2,60%
Bacilos grampositivos no esporulados	<i>Corynebacterium spp</i>	6	16	12	34	11,04%
	<i>Listeria spp.</i>	7	16	2	25	8,12%
	<i>Lactobacillus spp</i>	3	14	5	22	7,14%
	<i>Sin identificar</i>	-	-	1	1	0,32%
Total		64	121	123	308	100%



Gráfica 11. Porcentaje de aparición de los microorganismos identificados durante los tres muestreos

Tabla 16. Porcentaje de aparición para los aislamientos bacterianos en los diferentes

muestreos, según clasificación de Yadav y Madelin

Géneros identificados	VENTANA			TIMBRE			SILLA			PASAMANOS		
	N	%	*	N	%	*	N	%	*	N	%	*
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	75%	C	5	42%	F	6	50%	F	7	58%	F
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6	50%	F	4	33%	O	5	42%	F	1	8%	R
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	3	25%	O	2	17%	R	6	50%	F	0	0%	NE
<i>Micrococcus spp</i>	7	58%	F	6	50%	F	7	58%	F	2	17%	R
<i>Escherichia coli</i>	6	50%	F	5	42%	F	1	8%	R	5	42%	F
<i>Aeromonas spp</i>	1	8%	R	0	0%	NE	1	8%	R	2	17%	R
<i>Pseudomona spp</i>	3	25%	O	1	8%	R	5	42%	F	1	8%	R
<i>klebsiella spp</i>	0	0%	NE	4	33%	O	4	33%	O	1	8%	R
<i>Pasteurella spp</i>	1	8%	R	2	17%	R	0	0%	NE	0	0%	NE
<i>Shigella spp.</i>	0	0%	NE	0	0%	NE	1	8%	R	0	0%	NE
<i>Enterobacter spp</i>	0	0%	NE	0	0%	NE	0	0%	NE	2	17%	R

Géneros identificados	VENTANA			TIMBRE			SILLA			PASAMANOS		
	N	%	*	N	%	*	N	%	*	N	%	*
<i>Clostridium spp</i>	12	100%	MC	7	58%	F	6	50%	F	8	67%	C
<i>Bacillus cereus</i>	7	58%	F	5	42%	F	6	50%	F	3	25%	O
<i>Bacillus coagulans</i>	4	33%	O	0	0%	NE	4	33%	O	0	0%	NE
<i>Bacillus subtilis</i>	3	25%	O	2	17%	R	3	25%	O	7	58%	F
<i>Bacillus spp.</i>	3	25%	O	3	25%	O	9	75%	C	4	33%	O
<i>Sin identificar</i>	4	33%	O	2	17%	R	1	8%	R	1	8%	R
<i>Corynebacterium spp</i>	12	100%	MC	5	42%	F	11	92%	MC	6	50%	F
<i>Listeria spp.</i>	6	50%	F	5	42%	F	10	83%	MC	4	33%	O
<i>Lactobacillus spp</i>	5	42%	F	5	42%	F	5	42%	F	7	58%	F
<i>Sin identificar</i>	1	8%	R	0	0%	NE	0	0%	NE	0	0%	NE
Total	93			63			91			61		

MC muy común; C Común; F Frecuente; O Ocasional, R Rara; NE No Encontrado

Tabla 17. Índice de diversidad, dominancia y equitabilidad según las superficies muestreadas en los buses de transporte público de la ciudad de Neiva

	Ventana	Timbre	Silla	Pasamanos
Taxa_S	18	16	18	16
Individuals	93	63	91	61
Shannon_H	2.691	2.674	2.705	2.556
Evenness_e^H/S	0.8196	0.9057	0.8308	0.8053
Equitability_J	0.9312	0.9643	0.9359	0.9219

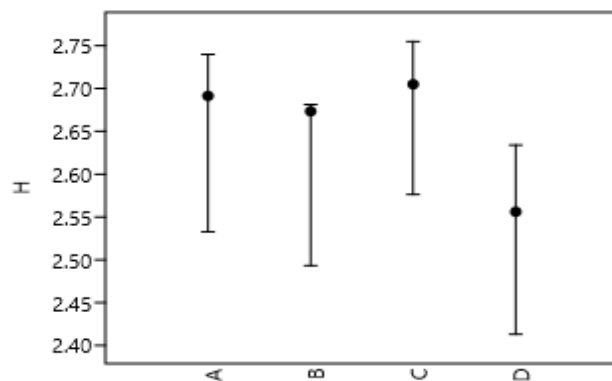


Figura 5. Índice de Shannon para cada superficie A. Ventana; B. Timbre; C. Silla y D. pasamanos

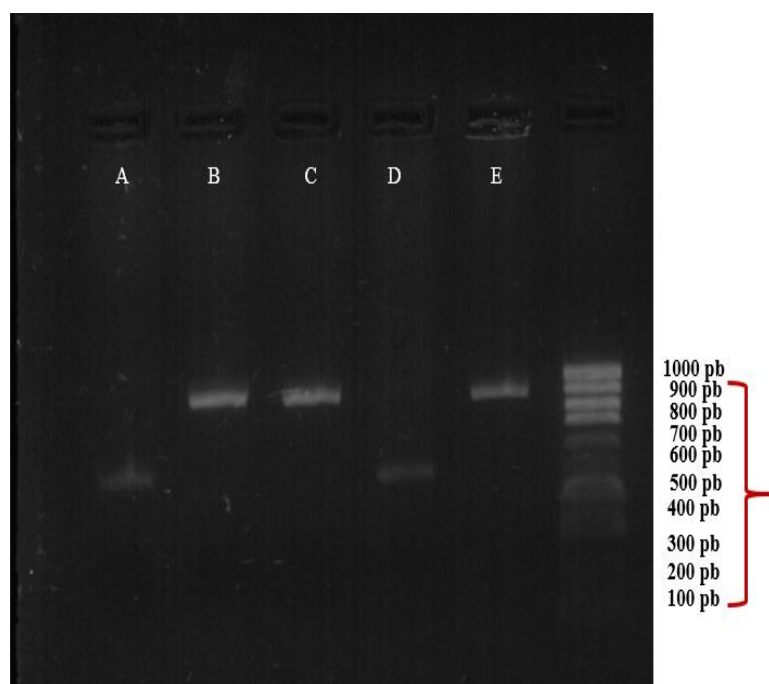


Figura 6 Amplificación del gen 16S rRNA con tamaño aproximado de 440 pb (A y D) y región ITS con tamaño aproximado de 990 pb (B, C Y E)

Tabla 18. Identificación de morfotipos bacterianos por secuenciación del fragmento ITS rDNA y 16s rDNA

Identificación por pruebas bioquímicas	Resultados biología molecular por medio del BLAST	Primer´s
Bacilo esporulado	<i>Rummeliibacillus stabekisii</i> strain PP9, complete genome	ITS
Bacilo esporulado	<i>Bacillus safensis</i>	ITS
<i>Clostridium</i> sp.	<i>Bacillus thuringiensis</i>	ITS
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Bacillus pumilus</i>	ITS
<i>Corynebacterium</i> sp.	<i>Bacillus pumilus</i>	ITS
<i>Clostridium</i> sp.	<i>Bacillus anthracis</i>	ITS
<i>Corynebacterium</i> sp.	<i>Bacillus megaterium</i>	ITS
<i>Corynebacterium</i> sp.	<i>Moraxella osloensis</i>	ITS
<i>Clostridium</i> sp.	<i>Bacillus endophyticus</i>	ITS
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Bacillus subtilis</i>	ITS
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Bacillus pseudomycoide</i>	ITS
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Bacillus circulans</i>	16 S rRNA
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	16S rRNA
<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Klebsiella</i> sp.	16 S rRNA

Tabla 19. *Secuencias que producen mayor similitud para las bacterias aisladas según BLASTN SUITE*

CÓDIGO DE ACCESO	CEPA BACTERTIANA	SIMILITUD %
CP014806.1	<i>Rummeliibacillus stabekisii</i> strain PP9	92%
CP018100.1	<i>Bacillus safensis</i> strain BRM1	96%
CP009651.1	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain Al Hakam	96%
CP018574.1	<i>Bacillus pumilus</i> strain GLB197	99%
CP018574.1	<i>Bacillus pumilus</i> strain GLB197	99%
CP022044.1	<i>Bacillus anthracis</i> strain FDAARGOS_341	99%
CP018874.1	<i>Bacillus megaterium</i> strain JX285	99%
AP017381.1	<i>Moraxella osloensis</i> DNA	97%
CP011974.1	<i>Bacillus endophyticus</i> strain Hbe603	92%
CP021985.1	<i>Bacillus subtilis</i> strain SR1 genome	99%
CP021985.1	<i>Bacillus subtilis</i> strain SR1 genome	99%
MF193911.1	<i>Bacillus pseudomycooides</i> strain WZ002 16S ribosomal RNA gene	92%
LT600644.1	<i>Bacillus circulans</i> partial 16S rRNA gene	98%
KU341737.1	<i>Klebsiella sp.</i> SA02 16S ribosomal RNA gene	99%

CÓDIGO DE ACCESO	CEPA BACTERTIANA	SIMILITUD %
LC109965.1	<i>Escherichia coli</i> gene for 16S ribosomal RNA	97%

1.9 Análisis de resultados

Teniendo en cuenta el promedio de UFC/placa se determinó que la superficie con mayor UFC/placa durante los tres muestreos fue el pasamanos (186 UFC/placa), seguida del timbre (174 UFC/placa), de la silla (145 UFC/placa) y de la ventana (144 UFC/placa), dicho valor no es estadísticamente significativo según los resultados analizados con el programa PAST (Hammer et.al, 2001) para ANOVA de un factor, con un nivel de significancia del $5\%=0.05$. En relación con el promedio de unidades formadoras de colonia del muestreo preliminar, primero y segundo (Tabla 6) se determinó una significancia de 0,25; esto quiere decir, que no se rechaza la hipótesis nula, ya que el valor crítico F calculado (0,25) es menor que F tabulado (3, 8, $0.05=4,07$) lo que significa que no hay una gran diferencia entre las variables del estudio (Tabla 6).

Aunque las sillas son las más utilizadas y están en mayor contacto con las personas tanto en extensión por las áreas del cuerpo como por el tiempo de exposición, presentan menos bacterias en comparación con los pasamanos y el timbre. Estos últimos, al tener un contacto directo con las manos pueden contaminarse indirectamente y albergar un número mayor de bacterias, mientras que las sillas en la gran mayoría de casos están en contacto con la ropa que llevan los usuarios. Las manos son reservorios de bacterias debido al constante contacto con diferentes objetos, además de poseer pliegues, folículos pilosos, áreas sebáceas, glándulas sudoríparas y uñas que contienen microorganismos, actúan como un medio de difusión de microorganismos potencialmente importantes lo que hace necesario un constante lavado de manos para eliminar la microbiota residente y la transitoria que puede contener microorganismos patógenos (Valencia, 2008). La ventana fue la superficie con menor contaminación, aunque presente contacto con las manos a la hora de abrirla y/o cerrarla; en este estudio se evidenció que en la mayoría de los automotores las ventanas se encontraban abiertas y tenían menor contacto con las manos.

De acuerdo a Judah, Donachie, Cobb, Schmidt, Holland y Curtis (2010), el riesgo de contaminación a través de las manos de los pasajeros no varía por factores como la edad, la visita a un hospital o si realizaron un lavado de manos antes de salir de casa, lo que permite resaltar que las personas que hacen uso de los buses de transporte público se exponen al mismo riesgo al entrar en contacto con las diferentes superficies. Es importante destacar que, la contaminación desde las superficies hasta los usuarios depende de la consistencia de la superficie, que según Rusin, Maxwell y Gerba, (2002): “Las velocidades de transferencia bacteriana más altas de los fómites a las manos se observaron con las superficies duras, no porosas”. Lo anterior tiene correspondencia con los resultados obtenidos en esta investigación, ya que los recuentos más altos se presentaron en pasamanos y timbre que presentan superficies duras (gráfica 6), lo que conduce a que los usuarios de los buses de transporte público presenten mayor probabilidad de contaminarse con los microorganismos presentes en estos fómites. El riesgo de contaminación en las superficies como la ventana y la silla es similar, ya que presentan una diferencia muy pequeña en la cantidad de UFC/placa; teniendo en cuenta su consistencia, se determinó que las sillas presentan un nivel de riesgo menor que las ventanas, debido a que no hay un contacto constante con las manos y su consistencia en la mayoría de los casos es porosa.

Según (Koneman, 2006), la composición de la microbiota normal, en sus aspectos cualitativos como cuantitativos, está influenciada por condiciones de higiene, factores climáticos, entre otros. Lo anterior permite inferir que el tipo de superficie y la interacción de los seres humanos con estas fue el mayor determinante de la estructura de la comunidad bacteriana; es así como se encontraron bacterias asociadas con la piel y cavidades orales como *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus* spp., así como bacilos Grampositivos del género *Corynebacterium* spp., las cuales generalmente son transferidas tocando, tosiendo o estornudando sobre las distintas superficies.

Los aislamientos obtenidos de las superficies de los buses analizadas correspondieron a bacterias propias de ambientes inanimados como *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli*, *Aeromonas* spp., *Clostridium* spp., *Bacillus* spp., *Listeria* spp., *Lactobacillus* spp., *Pseudomonas* spp.; *Klebsiella* spp.; *Pasteurella* spp.; *Shigella* spp. y *Enterobacter* spp. De acuerdo con Medéa et. al (2008), las superficies de los autobuses albergan microorganismos y/o parásitos potencialmente patógenos para la población, reportando un total de 22 especies aisladas e identificadas como *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Bacillus* spp., *Escherichia coli* y *Enterobacter* spp., las cuales también fueron identificadas en el presente estudio. Sin embargo, a pesar de ser sencillo evaluar la presencia de microorganismos en el medio ambiente es relativamente difícil establecer el papel de las bacterias en causar enfermedades en humanos, esto se debe a que no se ha establecido un parámetro que determine la cantidad de bacterias que puede tener un fómite para que una persona adquiera una enfermedad (Medéa, et. al, 2008).

Según el índice de Shannon-Wiener, los valores de diversidad se encuentran entre 2,55 y 2,70 (Figura 4) para cada una de las superficies evaluadas, es decir, presentaron diferencias poco significativas entre sí en la diversidad de las bacterias encontradas en cada uno de las superficies muestreadas. En cuanto a la equitabilidad de especies, los valores son cercanos a 1, lo cual representa una total equitatividad en la representación de individuos de cada especie detectada en las superficies.

De acuerdo con la clasificación de Yadav y Madeline (como se cita en Méndez y Camacho, 2015), se evaluó el porcentaje de aparición (frecuencia) de los aislamientos bacterianos en cada una de las superficies, estimando así que la ventana y la silla cuentan con los géneros que representan un porcentaje de frecuencia muy común como: *Corynebacterium* spp, *Clostridium* spp. (en ventana) y *Listeria* spp (silla) (Gráfica 11) estableciéndose que son los géneros más

abundantes en todos los muestreos. De los 16 aislamientos obtenidos del timbre, 8 de ellos presentaron aparición frecuente como fue *Staphylococcus aureus* (8,77%), *Escherichia coli* (5,52%) (tabla 14). De los 18 aislamientos obtenidos de la silla y de los 16 del pasamanos fue frecuente encontrar cocos grampositivos y *Lactobacillus* spp.

A partir de la información consignada en la tabla 14 se puede inferir que, aunque son los pasamanos la superficie con mayor UFC/placa no es la superficie con mayor índice de diversidad de especies, a diferencia de la silla que, aunque presentó uno de los valores más bajos en el recuento (gráfica 6) fue la superficie que mayor diversidad de especies presentó. Se infiere entonces, que la superficie con mayor UFC/placa no siempre es la que presenta mayor diversidad de especies, esto se puede relacionar con la limpieza que se realiza a los autobuses; las sillas al ser un objeto que generalmente recibe una limpieza superficial se convierten en uno de los sitios que proporciona condiciones adecuadas para desarrollar todo tipo de bacterias.

Como resultado de este estudio se encontraron cocos grampositivos catalasa y coagulasa negativos del género *Staphylococcus* spp., algunos forman parte de la microbiota de la piel y mucosas en humanos, así como *Micrococcus* spp., que están ampliamente distribuidos en superficies inanimadas, partículas de polvo y suelo. Una de las especies reportadas es el *Staphylococcus aureus* catalasa y coagulasa positivo, el cual se encuentra a nivel de la nasofaringe y de zonas húmedas como pliegues inguinales y axilas. De acuerdo con Seija, (2008) “Se estima que el índice de portación nasal en los adultos es de alrededor del 20-30%, expresado longitudinalmente, cerca del 30% de la población puede ser portador permanente, el 50% portador intermitente y el 20% no es colonizado”. Lo anterior afirma la presencia de esta bacteria en todas las superficies, ya que regularmente en el transporte público masivo se va a encontrar diferente población con gripe, resfriados, entre otras enfermedades comunes que pueden ser transmitidas

por diferentes vías de contagio a las superficies y de allí a otros usuarios, lo cual ocasiona una contaminación cruzada indirecta entre usuario-superficie (Cervantes, García, Salazar, 2014).

El *Staphylococcus saprophyticus*, hace parte de la flora normal de la piel y la mucosa del aparato genitourinario de los seres humanos (Forbes, Sahm y Weissfeld, 2009). Según Seija, (2008), “se encuentra ampliamente distribuido siendo causante de hasta el 20% de las infecciones urinarias extrahospitalarias en mujeres jóvenes, causa afecciones del tracto urinario bajo sin alteraciones estructurales”. Al relacionar la presencia de esta bacteria en las superficies del transporte público se puede decir que en las superficies inanimadas pueden ser fácilmente transferidos desde el cuerpo humano a través del contacto de las manos u otras partes del cuerpo a las superficies, tal como lo afirma Seija, (2008).

El *Staphylococcus epidermidis* tiene un alto nivel de frecuencia y una diferencia no marcada en cada uno de los objetos muestreados. Esta especie hace parte de la microbiota normal de la superficie corporal donde sobrevive gracias a sus lipasas, en ocasiones produce infecciones crecientes de piel y anexos; con respecto a la patogenicidad, es capaz de producir macromoléculas de superficie y extracelulares que inician y luego aumentan la adhesión bacteriana a la superficie plástica de cuerpos extraños. De acuerdo a Seija, (2008) la bacteria produce exopolisacáridos (Slime) o biofilm lo cual hace que presente una manera eficiente de adhesión, se puede unir a superficies como catéteres vasculares, prótesis, sondas; este biofilms forma una barrera que dificulta el paso de los antibióticos por lo que es común encontrar al *S. epidermidis* relacionado con enfermedades hospitalarias (Navar, 2007).

En el presente estudio se reportó la presencia de bacilos gramnegativos de las familias *Enterobacteriaceae* y *Pseudomonaceae*, tal como lo hace (Medéa et. al 2008) en un estudio sobre el potencial infeccioso del transporte público de pasajeros en la ciudad de Sao Paulo. La especie

Escherichia coli presentó el mayor número de aislamientos; este microorganismo se encuentra normalmente en el tracto gastrointestinal de seres humanos y de algunos animales, especialmente mamíferos. También hace parte de la microbiota normal y al estar presente de manera regular en el tracto gastrointestinal se le confiere como indicador principal de contaminación fecal en alimentos y en el agua. Existen muchas especies de *E. coli* que en su gran mayoría son inofensivos, si se encuentran en su hábitat intestinal natural; la *E. coli* como patógeno puede ser capaz de causar casos aislados o brotes de diarrea, síndrome urémico hemolítico, colitis hemorrágica y cuadros de disentería, principalmente en niños. Una de las razones por las cuales esta bacteria se presenta en estas superficies se debe a que en ocasiones los ciudadanos no se lavan las manos al salir del baño, lo cual hace que la falta de higiene cree mayor riesgo de contaminación.

Según el Boletín de enfermedades transfronterizas de los animales, “Diferentes cepas de *E. coli* son patógenos gastrointestinales graves para los seres humanos, y algunas también son patógenos para animales jóvenes destinados a la producción de alimentos. Las *E. coli* patógenas se distinguen de otras *E. coli* por su capacidad de provocar enfermedades mediante mecanismos genéticamente controlados, como la producción de toxinas, la adhesión e invasión de células huéspedes, la interferencia con el metabolismo celular y la destrucción de tejidos” (p 39).

En cuanto al género *Enterobacter* spp. hace parte de la microbiota normal del tracto gastrointestinal de los seres humanos; este género es un patógeno oportunista característico de infecciones nosocomiales. De acuerdo con el Manual de microbiología clínica Sánchez, (1986), “estas bacterias hacen parte de la flora entérica comensal”, es causante de infecciones de las vías urinarias y en ocasiones de neumonías, infecciones de heridas y sepsis. Otro género identificado fue el género *Klebsiella* spp., el cual se encuentra en sistemas de distribución de agua y se reporta que coloniza las arandelas de los grifos. Además, se expone que son excretados en las heces de

muchas personas y animales sanos, siendo detectadas con facilidad en aguas residuales (Ainsworth, 2004).

El género *Pseudomonas spp.* de acuerdo con (Puerta y Mateos, 2010), puede sobrevivir en casi todos los lugares donde hay suficiente oxígeno y fuente de alimentación; entre ellos se encuentran el suelo, el agua, en la superficie de la piel de animales, plantas y del hombre; son clasificados como patógenos oportunistas, lo que significa que van a vivir, pero no causan enfermedad en un huésped hasta que el sistema inmune del huésped se debilite y haya la posibilidad de una infección.

Además, se encontraron bacilos grampositivos esporulados del género *Bacillus spp.*, los cuales presentan una abundancia significativa y similar a los reportado por (Betancur *et al.*, 2010) en una investigación sobre los Billetes como fómites de bacterias con potencial patógeno para el hombre. Las bacterias del género *Bacillus* tienen como hábitat el suelo, el agua y el aire y algunas especies tienen gran importancia ecológica por la degradación de la materia orgánica en aerobiosis. Las esporas presentes en este tipo de bacterias le confieren al microorganismo la capacidad de diseminarse en el aire y de sobrevivir en el suelo, por tanto, pueden migrar grandes distancias y ser ubicuas en el medio ambiente hasta encontrar las condiciones óptimas para su crecimiento. Una de las características principales de este grupo es que se pueden diferenciar de acuerdo a su morfología ya que la posición sea (terminal, central y subterminal) y forma (esférica, elipsoidal, cilíndrica) de la endospora juegan un papel importante para la identificación , tal es el caso del *Bacillus anthracis* el cual presenta forma elipsoidal en posición subterminal, otro ejemplo es el *Bacillus cereus* que presenta esporas cilíndricas subterminales (Realpe, Hernández y Agudelo, 2001) .

La especie *Bacillus subtilis* se caracteriza porque sus esporas son resistentes a factores ambientales como el calor, el ácido y la sal persistiendo en el ambiente por largos periodos de

tiempo. Su frecuencia de aparición en todos los muestreos indica que es un microorganismo que hace parte de la microbiota ambiental (Hsueh *et al.*, 1999). La especie *Bacillus cereus* se caracteriza por estar relacionada con intoxicación alimentaria; algunas cepas producen una toxina termoestable en los alimentos que se asocia con la germinación de esporas y que genera un síndrome de vómitos en un plazo de 1 a 5 horas tras la ingestión. Otras cepas producen una enterotoxina termolábil tras la ingestión que produce diarrea en 10 a 15 horas. Se dice que es la causante de bacteriemia en enfermos inmunodeprimidos, además de hacer presentar síntomas como vómitos y diarrea (Bartram, 2003). Esta bacteria se encuentra frecuentemente como saprofita en el agua y en el suelo así como en el aire y en la vegetación, lo cual hace que su transferencia a los fómites y a los alimentos sea de una manera sencilla. De acuerdo a (Pérez, 2012), la colonización de diferentes nichos ecológicos es posible debido a su buena adaptabilidad y resistencia a variadas influencias gracias a la presencia de endosporas.

El género *Clostridium* spp. presenta bacterias ubicuas en el suelo y en el polvo, son capaces de sobrevivir en este ambiente mucho tiempo debido a sus esporas que crean resistencia a diversos factores ambientales, lo cual hace que sea común encontrarlas en las superficies de los vehículos. Debido a que, en su gran mayoría, los autobuses no tienen un sistema de ventilación con aire acondicionado es común que las ventanas estén abiertas por las altas temperaturas que presenta la ciudad facilitando que a través de las partículas de polvo estas bacterias lleguen hasta las superficies. Además, este microorganismo hace parte del sistema gastrointestinal y los usuarios que no realicen una desinfección adecuada de sus manos al salir del baño pueden pasar esta bacteria hacia las superficies con las que tienen contacto. Las especies del género *Clostridium* también se encuentran en aguas residuales, sedimentos marinos, animales y plantas, en las heridas del hombre

y de los animales; entran en contacto con en el cuerpo humano por medio de una de herida y son causantes de intoxicación alimentaria, entre otros (Holt *et al.* 1994).

Además, en esta investigación se aislaron bacilos grampositivos no esporulados de los géneros *Listeria* spp. y *Corynebacterium* spp. los cuales presentan algunas especies que forman parte de la microbiota normal de mucosas y piel del ser humano, generalmente son ubicuos en la naturaleza y pueden causar enfermedad a pacientes inmunodeprimidos cuando se altera la relación huésped-bacteria; las especies del género *Lactobacillus* se presentan con frecuencia en la boca y en el tracto intestinal del hombre y otros animales, en alimentos y productos lácteos y en jugos vegetales fermentados, algunas pocas especies son altamente patógenas (Holt, Krieg, Sneath, Staley y Williams, 1994).

De acuerdo con lo anterior, se puede inferir que son los fómites, en este caso la superficie de los buses de transporte público, quienes desempeñan un papel importante en la transmisión de microorganismos patógenos y no patógenos; esto se produce especialmente al no existir una reglamentación de normas de higiene por parte de los conductores y de las empresas vinculadas o por los hábitos inadecuados que presentan los usuarios. Según Uchikawa, Uchikawa, Gomes, Quartim, Queiroz y Lascala (2013), una recomendación que puede permitir la reducción de la carga microbiana en las superficies de los autobuses consiste en la limpieza previa de la superficie, seguida de desinfección con un agente microbicida, por ejemplo, el alcohol étílico al 70% (p/v), tal como lo realizan con las superficies de los hospitales. El mecanismo de acción de los alcoholes consiste en desnaturalizar las proteínas de los microorganismos, sólo si se encuentra diluido en agua; es por esta razón, que el alcohol puro absoluto presenta un menor poder bactericida. El alcohol al 70% puede matar al 90% de las bacterias de la piel si ésta se mantiene húmeda, se estima que el efecto del alcohol elimina como máximo al 75% de las bacterias; sin embargo, para las

empresas prestadoras del servicio de transporte realizar una desinfección a diario como la descrita anteriormente, aunque es pertinente, generaría mayores costos y que lo adecuado sería establecer en los usuarios del servicio un correcto y constante lavado de manos antes y después de preparar la comida, tras usar el baño, antes de comer, entre otras. Tal como reporta la Organización Mundial de la Salud y la Organización Panamericana de la Salud las buenas prácticas de higiene son la clave para la estrategia de entornos saludables (ESS), además que previenen enfermedades por diversos microorganismos.

De acuerdo con la Tabla 18, las bacterias identificadas por las pruebas microbiológicas convencionales, a las cuales se les realizó identificación por biología molecular, presentaron correspondencia en su gran mayoría con el género y en otros casos se logró determinar la especie; tal es el caso de *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pseudomycoide*, *Bacillus circulans* y *Escherichia coli*. También, se identificaron los bacilos grampositivos esporulados no identificados por medio de las pruebas bioquímicas, los cuales correspondieron a *Rummeliibacillus stabekisii* y *Bacillus safensis*, los cuales son microorganismos que tienen como hábitat el suelo y diferentes lugares geográficos (Vaishampayan P, Miyashita M, Ohnishi A, Satomi M, Rooney A, La Duc MT y Venkateswaran K, 2009).

Los géneros bacterianos que no correspondieron según la base de datos BLAST a los identificados previamente se pueden verificar en la Tabla 18, entre los cuales se encuentran identificados por pruebas microbiológicas convencionales los géneros *Clostridium* spp. y *Corynebacterium* spp. y por el método de biología molecular presentaron similitud con el género *Bacillus* spp.; de igual forma, el género *Pseudomonas* spp. según las pruebas de biología molecular correspondió a *Klebsiella pneumoniae* con una similitud del 86%. Lo anterior permite determinar que los métodos de identificación microbiológica de tipo convencional no son muy precisos,

debido a que en algunas ocasiones se presentan problemas inherentes en los sistemas fenotípicos de identificación, es decir, no todas las cepas que corresponden a una misma especie presentan características homogéneas; esto se debe a que una misma cepa es capaz de generar diferentes patrones en ensayos repetidos (Fernández, García, Sáez y Valdezate, 2010), para lo cual es necesario garantizar la comparabilidad de los resultados con métodos de Biología molecular que, incluso debido a lo expuesto anteriormente, pueden presentar limitaciones en las bases de datos (Jesumirhewe *et al*, 2016).

Según los resultados de este estudio los géneros como *Bacillus* spp. y *Clostridium* spp. pueden confundirse si no se realizan pruebas más específicas que permitan conocer el metabolismo bacteriano. Según el Manuel de Bergey (Holt, Krieg, Sneath, Staley y Williams, 1994), estos dos géneros sólo se diferencian en su respiración la cual fue evaluada por medio de la prueba de reducción de nitratos; las especies que dieron positivo a la prueba correspondieron al género *Clostridium*. El género *Corynebacterium* spp., que de acuerdo con las pruebas de biología molecular correspondió al género *Bacillus* sp., se identificó inicialmente por tinción de Gram lo cual pudo conducir a un falso positivo ya que según Seija (2008), las bacterias del género *Corynebacterium* presentan una estructura de la pared celular ácido-alcohol resistente lo cual hace que no se tiña o lo haga mal con la coloración de Gram; en cuanto al género *Bacillus* la identificación de la endospora requiere mayor precisión debido a que el proceso de formación demanda varias horas.

Para el caso de la especie *Moraxella osloensis* identificada por biología molecular, su identificación por pruebas microbiológicas convencionales permite confundirla con algunas especies de *Corynebacterium* spp., ya que en la tinción de Gram pueden tener el aspecto de

cocobacilos o de bacilos gruesos y cortos que tienden a resistir la decoloración y pueden aparecer como grampositivos. (Murray, 2006).

En cuanto a la utilización de los primer's se observó que para el caso del fragmento de la secuencia del gen 16S rDNA de 440 pb no presentó una especificidad adecuada, es decir, la amplificación de ADN sólo funcionó para 3 de las 14 muestras , por esta razón se utilizó la región ITS rDNA la cual presentó mayor eficiencia debido a que 11 de las 14 muestras evaluadas amplificaron, esto se debe a que dicha región aumenta la resolución taxonómica (Acosta; Gómez; Romero; Cadavid y Moreno; 2009). Es importante resaltar que la identidad efectiva de secuencias del fragmento ITS y de la secuencia 16s rRNA no es necesariamente un criterio suficiente para garantizar la identidad de la especie, es por esto, que generalmente se evalúan y se comparan con las pruebas de microbiología convencionales, ya que las bacterias de la microbiota ambiental suelen presentar cambios en su metabolismo bacteriano de acuerdo al hábitat en donde se encuentren (Suárez y Redecillas, 2016), además es necesario aclarar que para una correcta identificación entre cepas de una misma especie se utilizan otro tipo de pruebas como las serológicas y las que determinan la presencia o ausencia de toxinas.

Conclusiones

Las bacterias presentes en las superficies de los buses de transporte público de la ciudad de Neiva están relacionadas con enfermedades transmitidas por fómites principalmente infecciones cutáneas e infecciones respiratorias.

No existe diferencia significativa entre el número de pasajeros y los horarios establecidos en los diferentes puntos de muestreo, determinando que la toma de muestras puede llevarse a cabo en cualquiera de las tres jornadas del día.

El contacto directo entre las superficies y las manos ocasiona contaminación cruzada; aquellas que tienen mayor contacto con las manos presentan una contaminación más elevada (pasamanos: 186 UFC/placa y timbre: 174 UFC/placa) que aquellas que tienen menor contacto (silla: 145 UFC/placa y ventana: 144 UFC/placa).

El análisis estadístico por medio del método ANOVA de un factor permitió determinar que no hay diferencia significativa entre el número de UFC/placa en cada una de las superficies muestreadas.

El mayor número de aislamientos correspondió a bacilos gram positivos esporulados (33,77%), encontrándose que el género *Clostridium* spp. aparece con mayor frecuencia en las superficies muestreadas debido a que sus esporas les confieren resistencia a diferentes condiciones ambientales y en algunos casos, a altas concentraciones de detergentes y de alcohol antiséptico.

Se identificaron bacterias propias de ambientes inanimados tales como *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli*, *Aeromonas* spp., *Clostridium* spp., *Bacillus* spp., *Listeria* spp., *Lactobacillus* spp., *Pseudomonas* spp.; *Klebsiella* spp.; *Pasteurella* spp.; *Shigella* spp. y *Enterobacter* spp.

Los fómites desempeñan un papel importante en la transmisión de enfermedades ocasionadas por microorganismos patógenos, debido a que no existen normas de higiene establecidas por parte de las empresas de servicio público o por los hábitos de higiene inadecuados que presentan los usuarios.

A partir del índice de diversidad de Shannon-Wiener se determinó que la diversidad en términos de riqueza y abundancia es heterogénea para cada una de las superficies muestreadas, presentado una dominancia baja.

Según la Clasificación de Yadav y Madeline se estableció que la ventana y la silla cuentan con los géneros más abundantes en todos los muestreos como: *Corynebacterium* spp, *Clostridium* spp. (en ventana) y *Listeria* spp (silla). Mientras que el timbre, presentó una aparición frecuente como fue *Staphylococcus aureus* (8,77%) y *Escherichia coli* (5,52%).

La región ITS rDNA ubicada entre el fragmento 23S y 16S presentó mayor eficiencia debido a que 11 de las 14 muestras evaluadas amplificaron con este primer, mientras que con el primer de la región 16S rRNA sólo amplificaron 3 de las 14 muestras evaluadas.

Las técnicas de biología molecular respecto a las técnicas de microbiología convencional son más exactas al momento de la identificación; sin embargo, las dos técnicas pueden complementarse debido a que las bacterias de la microbiota ambiental suelen presentar cambios en su metabolismo de acuerdo al hábitat en donde se encuentren.

Recomendaciones

Para realizar una investigación de este carácter es necesario tener un entrenamiento previo en cuanto a las técnicas microbiológicas, así como las moleculares.

Según los resultados de los métodos convencionales en la identificación de especies, se recomienda elaborar una guía metodológica para cada uno de los morfotipos aislados (cocos grampositivos, bacilos gramnegativos, bacilos grampositivos esporulados y no esporulados) que lleve una secuencia en el proceso de identificación y que permita un análisis más eficaz y rápido.

De acuerdo con los resultados obtenidos en la amplificación, se sugiere realizar un diseño cuidadoso de los primer's, ya que de ellos depende la amplificación del DNA y la especificidad de la identificación.

Bibliografía

Audesirk, T., Audesirk, G., & Byers, B. E. (2003). *Biología: La vida en la tierra*. México: Pearson Educación.

Alarcón, L. y Olivas, E. (2004). *Manual de prácticas de Microbiología básica y Microbiología de alimentos*. Universidad Autónoma de ciudad de Juárez. Instituto de Ciencias Biomédicas. Academia de Microbiología y Parasitología. Departamento de Ciencias Básicas. Recuperado de: <https://books.google.com.co/books?id=Oy-kG04CIBUC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

Ainsworth, R. (2004): Safe piped water: *Managing microbial water quality in piped distribution systems*. IWA Publishing, Londres (Reino Unido), para la Organización Mundial de la Salud, Ginebra (Suiza).

Ábalos, C. (2005). Adhesión bacteriana a biomateriales. *Avances en Odontoestomatología*, 21(1), 347-353. Recuperado de: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0213-12852005000100003&lng=es&tlng=es.

Acosta, E., Gómez, E., Romero, M., Cadavid, G., And Moreno, C.,(2009) Identificación molecular de poblaciones bacterianas asociadas al caracol pala (*strombus gigas*) del caribe colombiano. *Acta Biológica Colombiana*; Vol. 14, núm. 2 (2009); 83-96 1900-1649 0120-548X

Afshinnekoo, E., Meydan, C., Chowdhury, S., Jaroudi, D., Boyer, C., Bernstein, N., Mason, C. E. (2015). Geospatial Resolution of Human and Bacterial Diversity with City-Scale Metagenomics. *Cell Systems*, 1(1), 72–87. <http://doi.org/10.1016/j.cels.2015.01.001>

- Alarcón, T., D'Auria, G., Delgado, S., Moreno, R. y Ferrer, M. (2016). *Procedimientos en Microbiología Clínica*. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. ISBN: 978-84-617-7001-4 Recuperado de:
<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia59.pdf>
- Bartram J *et al.* (eds.), (2003) *Heterotrophic plate counts and drinking-water safety: the significance of HPCs for water quality and human health*. Serie de la OMS Emerging Issues in Water and Infectious Disease. Londres (Reino Unido), IWA Publishing.
- Betancur, C., Estrada, S., Ceballos, M. T, Sánchez, E, Abad A. M, Vanegas. C., y Salazar, L. M. (2010). *Billetes como fómites de bacterias con potencial patógeno para el hombre*. Asociación colombiana de infectología revista infectio. Recuperado de:
<http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v14n2/v14n2a06.pdf>
- Cortázar, A y Silva, E. P., (2004). *Métodos físico-químicos en biotecnología*. PCR. Instituto de Biotecnología. Universidad Autónoma de México. Recuperado de:
<http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/pcr.pdf>
- Cuervo, R. (2010). Manual de protocolos de microbiología general. Universidad de San Buenaventura Seccional Cali. Editorial Bonaventuriana. ISBN: 978-958-8436-46-3 Recuperado de: <http://bibliotecadigital.usb.edu.co/bitstream/10819/187/1/ProtocolosMicrobiologia.pdf>
- Cervantes, E., García, R., Salazar P. M., (2014). *Características generales del Staphylococcus aureus*. Revista Latinoamericana de Patología Clínica. Medicina de Laboratorio. 61 (1): 28-40. Recuperado de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>

- Córdova, G. T, Vong Y. M. Y Borges R. M. (2016). *Electrolytic bath for producing antibacterial metal coatings containing nickel, phosphorus and nanoparticles of an antibacterial metal (ni-p-manp's)*). Centro De Investigación Y Desarrollo Tecnológico En Electroquímica, S.C.. WO 2016170408 A1
- Fernández, A., García, C., Sáez, J. A. y Valdezate, S., 2010. *Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología*. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Recuperado de:
<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>
- Forbes, B. A., Sahm, D., Weissfeld, A, (2009). *Diagnostico microbiológico*. Bailey & Scott. 12 edición. Editorial Panamericana. Recuperado de:
<https://books.google.com.co/books?id=239cauKqSt0C&printsec=frontcover&dq=diagnostico+microbiologico&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi0o83J-tnUAhVBRyYKHdtnDicQ6AEIITAA#v=onepage&q=diagnostico%20microbiologico&f=false>
- Grice, E. A. y Segre J. A. (2011). *The skin microbiome*. Nat Rev Microbiol.;9:244-53.
- Holt, J.G., Krieg, N. R., Sneath, P. H.A., Staley, J. T., Williams S.T., (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
- Hall, T. A. (1999). *BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT*. *Nucleic Acids*, 41, 95-98.
- Hammer, O., Harper, D. A.T., and Ryan, P.D., (2001). *Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis*. *Palaeontologia Electronica*, vol. 4, issue 1, art. 4: 9pp., 178kb. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm.

- Hsueh PR, Teng LJ, Yang PC, Pan HL, Ho SW, Luh KT (1999). *Nosocomial pseudoepidemic caused by Bacillus cereus traced to contaminated ethyl alcohol from a liquor factory*. J Clin Microbiol.;37:2280-4.
- Hernández, C.B.; Pimentel, J.; Nader, J. J y Herrera, I. (2013). *Bacterias por tres pesos*. centro universitario México. Laboratorio de Jóvenes hacia la Investigación. México.
- Ingraham, J. y Ingraham, C. (1998). *Introducción a la Microbiología*. Primera Edición. Editorial Reverté, Barcelona España.pp 474
- Judah, G., Donachie, P., Cobb, E., Schmidt, W., Holland, M., & Curtis, V. (2010). *Dirty hands: Bacteria of faecal origin on commuters' hands*. Epidemiology and Infection, 138(3), 409-414. doi:10.1017/S0950268809990641
- Jesumirhewe, C., Ogunlowo, PO, Olley, M., Springer, B., Allerberger, F., y Ruppitsch, W. (2016). *La exactitud de los métodos de identificación convencionales utilizados para Enterobacteriaceae aísla en tres hospitales nigerianos*. PeerJ , 4 ,e2511. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5045884/>
- Koneman, E. W., Winn, Allen, S. D., Janda, W. M., Procop, G. W., Schreckenberger, P. C. y Woods, G. L., (2011). *Diagnostico microbiológico*. Sexta edición. Editorial panamericana. Recuperado de: https://books.google.com.co/books?id=jyVQueKro88C&printsec=frontcover&hl=es&source=gb_s_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Lucana, M. R. Y Huanca, R. M. (2014). *Estructura Bacteriana*. Rev. Act. Clin. Med [Online]., Vol.49, Pp. 2589-2593. Issn 2304-3768.

- Lopez, G. U., Gerba, C. P., Tamimi, A. H., Kitajima, M., Maxwell, S. L., & Rose, J. B. (2013). *Transfer Efficiency of Bacteria and Viruses from Porous and Nonporous Fomites to Fingers under Different Relative Humidity Conditions*. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(18), 5728–5734. <http://doi.org/10.1128/AEM.01030-13>
- Montoya, V. H. (2008). *Microbiología básica para el área de la salud y afines*. Medellín: Editorial Universidad de Antioquia.
- Merino, L. A. (2007). Pseudomonas aeruginosa: Una bacteria con personalidades múltiples. *Revista Argentina de Microbiología* ISSN 0325-7541 143 39: 143. Recuperado de: <http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v39n3/v39n3a04.pdf>
- MacFaddin, (2003). *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. 3th Edición. España
- Medéa, R; Sciascia, G.; Jennè, L.; Navarini, A; Paschoalotti, M. y Chieffi, P., (2008). *Potencial infeccioso do transporte público de passageiros da cidade de São Paulo*. Infection potential of public transportation system in the municipality of São Paulo, SP, Brazil *Arquivos Médicos Hospitais E da Faculdade de ciencias medica da Santa Casa de São Paulo*; 53(2):53-7
- Man, S. M., Kaakoush, N. O., Octavia, S., & Mitchell, H. (2010). *The Internal Transcribed Spacer Region, a New Tool for Use in Species Differentiation and Delineation of Systematic Relationships within the Campylobacter Genus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(10), 3071–3081. Recuperado de: <http://doi.org/10.1128/AEM.02551-09>
- Mendez, C. y Camacho, J. G (2015). Identificación de hongos y bacterias en el aire de Neiva. *Revista salud publica* 17 (5): 728-737. <http://dx.doi.org/10.15446/rsap.v17n5.3846>

Mignard. S., Flandrois, J.P., (2006). *16S rRNA sequencing in routine bacterial identification: A 30-month experiment*. Journal of Microbiological Methods. Volume 67, Issue 3, pp 574-581.

Recuperado de:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167701206001655?via%3Dihub>

Murray P.R. (2006). *Microbiología Médica*. 5ª ed., ELSEVIER. Madrid, España. pp 340

Magurran, A. E. (1988). *Ecological diversity and its measurement*. Princeton University Press, New Jersey. pp 179

Negroni, M. (2009). *Microbiología Estomatológica. Fundamentos y guía práctica*. Editorial Panamericana. 2ª Edición. Recuperado de: <https://books.google.com.co/books?id=Gxmui-vjZBgC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

Nazar, J., (2007). *Biofilms bacterianos*. Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello [online]. Vol.67, n.1, pp.161-172. ISSN 0718-4816. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-48162007000100011>.

Ortiz E.; Segovia, A.; Valdez, E. & Velezvilla, G.; (2013). *Aislamiento de microorganismos del ambiente y superficies del transporte público en horas de mayor movilización por usuarios*. Lima- Perú. Recuperado de: <https://es.slideshare.net/EnverOrtizLopez/aislamiento-de-microorganismos-del-ambiente-y-superficies-del-transporte-pblico-en-horas-de-mayor-movilizacion-por-usuarios-limaperu>

Pérez, I. (2012). *Bacillus cereus y su papel en las intoxicaciones alimentaria*. Revista Cubana de Salud Pública. 38(1) 98-108. Recuperado de: <http://www.scielosp.org/pdf/rcsp/v38n1/spu10112.pdf>

- Puerta y Mateos, 2010. *Enterobacterias*. Unidad de Enfermedades Infecciosas. Servicio de Medicina Interna. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete. Albacete. España. Recuperado de: http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicine2010.pdf
- Rodicio, M y Mendoza, M (2004). *Identification of bacteria through 16S rRNA sequencing: Principles, methods and applications in clinical microbiology*. Enfermedades infecciosas y Microbiología clínica. Vol. 22.
- Rocha, R. Lozano, P. y Martínez, I. (2004). Mecanismos de patogenicidad e interacción parásito-hospedero. 1º Edición. Editorial Universidad Autónoma de Puebla, México. Pp 309
- Realpe, M., Hernandez, C. A. y Agudelo, C. I. (2002). *Especies del género Bacillus: morfología macroscópica y microscópica*. Grupo de Microbiología del Instituto Nacional de Salud. División de Biblioteca y Publicaciones, Instituto Nacional de Salud, Bogotá. Recuperado de: <https://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/viewFile/1148/1263>
- Rusin, P., Maxwell, S. and Gerba, C. (2002), *Comparative surface-to-hand and fingertip-to-mouth transfer efficiency of gram-positive bacteria, gram-negative bacteria, and phage*. Journal of Applied Microbiology, 93: 585–592. doi:10.1046/j.1365-2672.01734.x
- Suarez, E y Redecillas, S (2016). *Microbiota autóctona*. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. España.
- Seija, V (2008). *Temas De Bacteriología y Virología Médica*. Etiopatogenia Microbiológica. Sección III. pp 257
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., & Manitis, T. (1989). *Molecular cloning a laboratory manual*. Cold-Springer.

Sánchez, M.P., (1986). *Manual de procedimientos en Bacteriología Clínica*. 1 edición. Publimages Carrión LTDA. Bogotá – Colombia. pp 56-77

Tortora, G., Funke, B. R., & Case, C. L. (2007). *Introducción a la microbiología*. Buenos Aires: Médica Panamericana.

Uchikawa, M., Uchikawa, K., Gomes, F. M., Quartim, C., Queiroz, R., y Lascala, C. A., (2013). *Effectiveness of disinfection with alcohol 70% (w/v) of contaminated surfaces not previously cleaned*. Rev. Latino-Am. Enfermagem Original Article 2013 Mar.-Apr.;21(2):618-23

Valencia, J.M.T., (2008). *Grado de contaminación microbiana de las manos y utensilios en el consumo de alimentos en los niños de 6 a 10 años en el pueblo joven Nuevo Pachacutec – Lima*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Recuperado de:
http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1434/1/Valencia_bj.pdf

Vaishampayan P, Miyashita M, Ohnishi A, Satomi M, Rooney A, La Duc MT y Venkateswaran K, (2009). *Description of Rummeliibacillus stabekisii gen. nov., sp. nov. and reclassification of Bacillus pycnus Nakamura et al. 2002 as Rummeliibacillus pycnus comb. nov.* Int J Syst Evol Microbiol. 2009 May;59(Pt 5):1094-9. doi: 10.1099/ijs.0.006098-0. Recuperado de:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19406799>

Villafañe, L. (2009). *Determinación de la carga fúngica anemófila en seis sectores de la Ciudad de Cartagena de Indias*.

Anexos

Anexo A. Tinción de Gram

Este procedimiento se realizó siguiendo el protocolo descrito por Cuervo (2010):

- Preparar un extendido fino de una colonia bacteriana y dejarlo secar al aire.
- Fijar el material al portaobjeto pasando el portaobjeto 3 ó 4 veces sobre la llama del mechero.
- Cubrir la superficie con solución cristal-violeta durante 1 minuto.
- Lavar.
- Cubrir el preparado con solución de yodo (Lugol de Gram) durante un minuto.
- Lavar.
- Bañar la superficie con el decolorante (alcohol cetona), hasta no arrastrar más colorante violeta (10 segundos más o menos).
- Lavar
- Cubrir con safranina o el contra-colorante a utilizar durante un minuto.
- Lavar.
- Examinar el preparado al microscopio, las bacterias Gram positivas se observan de color violeta y las Gram negativas de color rojo o rosadas.

Anexo B. Pruebas Bioquímicas

Prueba	Indicador resultado		Fundamento
	Positivo	Negativo	
¹ Catalasa	La rápida aparición y la producción de efervescencia o burbujas con gas	No hay ninguna reacción	Es una enzima que descompone el peróxido de hidrogeno en oxígeno y agua: $\text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
¹ Coagulasa	Hay formación de un coagulo	No hay ninguna reacción	Es una enzima extracelular capaz de ligarse a la protombina para transformar el fibrinógeno en fibrina
¹ oxidasa	Color azul	Incoloro	Las tiras contienen oxalato de dimetil-para-fenilendiamina, el cual es el sustrato de la enzima oxidasa. Los microorganismos que producen la enzima oxidasa se evidencian porque en presencia de oxígeno atmosférico y citocromo c, se oxida el sustrato presente en los discos a un compuesto de color rojo-fucsia.
² Ureasa	La presencia de una coloración rojiza o fucsia indica alcalinización	Medio permanece amarillo con crecimiento de microorganismos	Es una enzima que poseen muchas especies de microorganismos que pueden hidrolizar urea $(\text{Urea} + 2\text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + 2\text{NH}_3)$
² Citrato de simmons	Crecimiento a lo largo de la estría. Acompañado o no de un viraje del medio a azul	No hay crecimiento, no hay viraje del medio.	Identifica bacterias que utilizan el citrato como única fuente de carbono

Prueba	Indicador resultado		Fundamento	Prueba
	Negativo	Positivo		
¹ sulfuro-indol motilidad	Indol		Esta prueba evalúa la habilidad de un microorganismo para desdoblar el indol del aminoácido triptófano, a través de la triptofanasa. Si el indol está presente, se combina con el aldehído para producir un compuesto quinoidal rojo violeta (si se utiliza el reactivo de Kovacs).	
	Color rojo	Incoloro-amarillento		
	Producción H₂S			
	Presencia de turbidez o crecimiento más allá de la línea de siembra.	Crecimiento solamente en la línea de siembra		
	Movilidad			
	Presencia de turbidez o crecimiento más allá de la línea de siembra	Crecimiento solamente en la línea de siembra		

Anexo C. Medios de cultivo

Prueba	Resultados	Fundamento
¹ Agar Manitol Salado	Es medio altamente selectivo debido a su alta concentración salina. Los estafilococos positivos a la coagulasa (por ejemplo, <i>Staphylococcus aureus</i>) producen colonias de color amarillo y un medio circundante de color amarillo, mientras que los estafilococos negativos a la coagulasa producen colonias de color rojo y no producen cambio de color en el indicador de rojo fenol.	Medio de cultivo selectivo y diferencial que es utilizado en aislamiento y diferenciación de estafilococos. positivos a la coagulasa (por ejemplo, <i>Staphylococcus aureus</i>) de los estafilococos negativos a la coagulasa
² Agar MacCon key	Las colonias de los microorganismos fermentadores de lactosa (coliformes) en agar MacConkey son de color rojo ladrillo, eventualmente rodeadas de bilis precipitada. Los microorganismos lactosa negativos dan colonias incoloras o de color muy claro	Medio selectivo para el crecimiento de enterobacterias. Contiene peptona, sales biliares, lactosa y rojo neutro como indicador de PH (evidencia la fermentación de la lactosa el cambio de color)
³ Agar TSI (Triple azúcar hierro)	1-Pico alcalino/fondo ácido (pico rojo/fondo amarillo): el microorganismo solamente fermenta la glucosa. 2-Pico ácido/fondo ácido (pico amarillo/fondo amarillo): el microorganismo fermenta glucosa, lactosa y/o sacarosa. 3-Pico alcalino/fondo alcalino (pico rojo/fondo rojo): el microorganismo es no fermentador de azúcares. 4-La presencia de burbujas, o ruptura del medio de cultivo, indica que el microorganismo produce gas. 5-El ennegrecimiento del medio indica que el microorganismo produce ácido sulfhídrico.	Es un medio de cultivo que permite evaluar la capacidad de producción de ácido y gas a partir de glucosa, sacarosa y lactosa en un único medio. Además, permite la detección de la producción de H ₂ S.

Prueba	Resultados	Fundamento
² Caldo Tioglicolato	<p>De acuerdo a la relación con microorganismos-oxígeno presente en el medio, aquellos que son indiferentes al oxígeno y tienen un metabolismo estrictamente fermentativo, crecerán al largo del tubo.</p> <p>Los anaerobios facultativos, crecerán a lo largo de todo el tubo, pero habrá mayor crecimiento en la superficie del tubo</p> <p>Los aerobios estrictos crecerán sólo en la superficie del tubo (no fermentan)</p> <p>Los microaerofilos, no crecerán en la superficie, pero sí en la zona aerobia, donde haya una concentración de oxígeno inferior a la atmosférica</p> <p>Los aerobios estrictos, que puedan crecer en este medio sólo se desarrollarán en el fondo del tubo</p>	<p>Los microorganismos pueden ser clasificados de acuerdo a su crecimiento en el medio, es así como se establecen en aerobios estrictos, anaerobios estrictos y anaerobios facultativos</p>
³ Caldo tripticasa soya	<p>El crecimiento microbiano se observa por la presencia de turbidez.</p>	<p>La tripteína y la peptona de soya aportan nutrientes ricos en péptidos, aminoácidos libres, bases púricas y pirimídicas, minerales y vitaminas. La peptona de soya contiene alta cantidad de hidratos de carbono que estimulan el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. El fosfato dipotásico otorga capacidad buffer y la glucosa es la fuente de energía.</p>
⁵ Caldo nitrato	<p>Para determinar si el nitrato ha sido reducido a nitrito, se añade al medio de cultivo, 2 gotas de solución A(Ácido sulfanílico), y luego 2 gotas de la solución B (α-Naftilamina) y mezcla. La aparición de una coloración rosada o roja indica que los nitratos han sido reducidos a nitritos.</p>	<p>En esta prueba se detecta una respiración anaerobia: la que utiliza nitrato como aceptor final de electrones. Los nitratos se reducen a nitritos y algunas bacterias reducen los nitritos a</p>

Prueba	Resultados	Fundamento
	Si la reacción es negativa, añade una muy pequeña cantidad de polvo de Zinc. La aparición de una coloración rosada o roja confirma la negatividad de la reacción; en caso de que esto no suceda, significa que los nitratos han sido reducidos a N ₂ gaseoso, es decir se ha producido una desnitrificación.	productos gaseosos (N ₂ y N ₂ O). Las enzimas responsables de ambas reducciones se denominan nitrato y nitrito reductasa , respectivamente.
⁴ Agar eosina azul de metileno (EMB)	<p>Características de las colonias bacterianas en este medio, de acuerdo con la especie:</p> <p><i>Escherichia coli</i> presenta coloración verdosa con brillo metálico y centro negro azulado.</p> <p><i>Klebsiella pneumoniae</i> presenta características mucosas, rosa púrpura, confluentes.</p> <p><i>Proteus mirabilis</i> no presenta coloración.</p> <p><i>Enterococcus faecalis</i> es incolora pequeña y puntiforme.</p> <p><i>Shigella flexneri</i> es incolora</p> <p><i>Salmonella typhimurium</i> también es incolora.</p> <p>Tomado de: http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/embagar.htm</p>	<p>Este medio combina las fórmulas de Holt-Harris y Teague con la de Levine, para obtener un mejor rendimiento en el aislamiento selectivo de enterobacterias y otras especies de bacilos Gram negativos. La diferenciación entre organismos capaces de utilizar la lactosa y/o sacarosa, y aquellos que son incapaces de hacerlo, está dada por los indicadores eosina y azul de metileno; éstos ejercen un efecto inhibitorio sobre muchas bacterias Gram positivas. Muchas cepas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Citrobacter</i> spp. presentan un característico brillo metálico. Las cepas que utilizan la lactosa poseen centro oscuro con periferia azulada o rosada, mientras que las que no lo hacen son incoloras.</p>
³ Agar LIA	<p>Descarboxilación de la lisina:</p> <p>Resultado positivo: superficie alcalina/profundidad alcalina (pico violeta/ fondo violeta),</p>	<p>Este medio de cultivo se caracteriza porque la peptona y el extracto de levadura son los encargados de aportar los nutrientes para el desarrollo</p>

Prueba	Resultados	Fundamento
	Resultado negativo: superficie alcalina/profundidad ácida	bacteriano. Además, es la glucosa el hidrato de carbono fermentable y es la lisina el sustrato utilizado para detectar la presencia de las enzimas decarboxilasa y deaminasa Para la producción de ácido de sulfúrico, el citrato de hierro y amonio y el tiosulfato de sodio son los indicadores de la producción de ácido sulfúrico.
	Desaminación de la lisina:	
	Resultado positivo: superficie rojiza/profundidad ácida.	
	Producción de ácido sulfúrico H ₂ S:	
	Resultado positivo: se caracteriza porque ocurre un ennegrecimiento del medio de cultivo (especialmente en el límite entre la superficie y profundidad).	
	Resultado negativo: el medio de cultivo permanece sin cambio de color	
⁵ Agar MIO	Movilidad	Este medio se caracteriza por ser altamente nutritivo ya que contiene levadura, peptona y tripteína.
	Resultado positivo: presencia de turbidez o crecimiento de la línea de siembra	La tripteína aporta una gran cantidad de triptófano, el cual es un sustrato de la enzima triptofanasa a partir del cual se forma el indol que se puede revelar por medio del reactivo de Kovacs al formarse un compuesto color rojo.
	Resultado negativo: crecimiento solamente en la línea de siembra	
	Ornitina Descarboxilasa	
	Resultado positivo: color púrpura	La glucosa es el hidrato de carbono fermentable, siendo la ornitina el sustrato para la detección de la enzima Ornitina de carboxilasa, el purpura de bromocresol es el indicador de PH, que en medio alcalino es de color purpura y en medio ácido es amarillo.
	Resultado negativo: color amarillo	

Prueba	Resultados	Fundamento
⁴ Agar Sangre	<p>Se observa la hemólisis en este medio:</p> <p>Hemolisis alfa: lisis parcial de los glóbulos rojos, se observa un halo de color verdoso alrededor de la colonia. Es debido a la oxidación de la hemoglobina a metahemoglobina (compuesto de color verdoso) por el peróxido de hidrogeno generado por los microorganismos.</p> <p>Hemolisis beta: ocurre una lisis total de los glóbulos rojos. Se observa un halo claro brillante alrededor de la colonia en estudio.</p> <p>Hemolisis gamma: en esta hay ausencia de lisis. El medio no presenta cambios en la coloración o en el aspecto alrededor de la colonia.</p>	<p>Este medio está compuesto por la infusión muscular de corazón y la peptona, la cual permiten el crecimiento de una gran variedad de microorganismos, incluso algunos que tienen exigencias nutricionales. El cloruro de sodio es el encargado de mantener el balance osmótico y el agar es el agente solidificante.</p>

Recuperado de:

- 1 Laboratorios Britania Lab. S.A (2010). Recuperado de: <http://www.britanialab.com/>
- 2 Seija, 2008. Seija, V (2008). *Temas De Bacteriología y Virología Médica*. Etiopatogenia Microbiológica. Sección III. pp 124-125
- 3 Rojas, A. (2011). Conceptos y práctica de Microbiología general. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. Código: P-MV-OM-10.002.002
- 4 Bailón, L., Cruz, R. y Cervantes, A. (2003). Atlas de Pruebas Bioquímicas para Identificar Bacterias. Universidad Nacional Autónoma de México. pp 1-175
- 5 Laboratorios Condalab (2010) Recuperado de: <http://www.condalab.com/es/productos/microbiologia/condaproductos/microbiology/dehydrated-culture-media-for-microbiology//show/Categoria/1281/>

Anexo D. Descripción de la morfología de colonia

Tabla 20. Morfología de colonia muestreo preliminar

Código	Morfofoto	Forma			Elevación			Borde			Superficie		Densidad			Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Pulvinada	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
VB1	M1	X			X					X		X		X	X				Blanco	16 mm
VB1	M2	X				X		X				X		X			x		Amarillo	3mm
VB1	M3			x	X				X		X			x	X				Blanco	13 mm
VB1	M4	X			X			X				X		X	X				Blanco	10 mm
VB1	M5	X					X	X			X			X	X				Amarillo	4 mm
VB1	M6	X			X			X			X			X	X				Blanco	10 mm
VB1	M7		X				X	X			X			X	X				Blanco	1 mm

Código	Morfortipo	Forma			Elevación			Borde			Superficie		Densidad			Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Pulvinada	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
VB1	M8	X				X	X				X			X	X				Amarillo	1 mm
VB1	M9	X			X					X	X			X	X				Amarillo	5 mm
VB1	M10	X			X		X				X		X		X				Blanco	<1mm
VB2	M1	X			X			X				X		X	X				Blanco	10 mm
VB2	M2	X			X		X				X			X	X				Blanco	1 mm
VB2	M3	X			X		X				X		X		X				Beige	<1mm
VB3	M1	X				X		X			X			X	X				Beige	4 mm
VB3	M2	X				X	X				X			X	X				Amarillo	3 mm
VB3	M3	X				X	X				X			X	X				amarillo	3 mm

Código	Morfofoto	Forma			Elevación			Borde			Superficie		Densidad		Consistencia		Color	Diámetro
		Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Pulvinada	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa		
VB3	M4	X				X	X				X		X	X			Beige	1 mm
VB3	M5	X			X		X				X		X	X			Beige	<1m m
TB1	M1	X			X		X				X		X	X			Blanco	<1m m
TB1	M2	X			X		X				X		X	X			Beige	<1m m
TB1	M3	X				X	X				X		X	X			Blanco	1 mm
TB2	M1	X			X				X	X	X		X	X			Blanco	1 mm
TB2	M2	X				X		X			X		X	X			Blanco	2 mm
TB2	M3	X				X	X				X		X	X			Blanco	1 mm
TB2	M4	X			X		X				X		X	X			Beige	<1m m

Código	Morfofoto	Forma			Elevación			Borde			Superficie		Densidad			Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Pulvinada	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
TB2	M5	X				X	X				X		X		X				Beige	1 mm
TB3	M1	X				X	X				X			X	X				Beige	1 mm
TB3	M2	X		X			X				X		X		X				Beige	<1m m
SB1	M1	X			X			X			X			X	X				Beige	30 mm
SB1	M2	X			X			X				X		X	X				Beige	40 mm
SB1	M3	X			X		X				X			X	X				Amarillo	2 mm
SB1	M4	X			X		X					X		X	X				Blanco	30 mm
SB1	M5	X			X		X					X		X			X		Amarillo	1 mm
SB1	M6				X				X		X			X	X				Beige	50 mm

Código	Morfofoto	Forma			Elevación			Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Pulvinada	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide		
SB1	M7	X				X			X			X					X	Amarillo	30 mm
SB1	M8		X		X		X				X			X	X			Blanco	1 mm
SB1	M9	X			X			X			X					X		Blanco	2 mm
SB1	M10	X			X				X	X				X	X			Blanco	40 mm
SB1	M11	X			X			X				X		X	X			Beige	1 mm
SB1	M12		X		X		X				X			X	X			Blanco	<1mm
SB2	M1		X		X			X			X			X	X			Lila leve	5 mm
SB2	M2		X		X		X				X			X	X			Beige	1 mm
SB2	M3		X		X		X				X			X	X			Blanco	1 mm

Código	Morfofoto	Forma			Elevación			Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Pulvinada	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide		
SB3	M1		X		X			X				X		X	X			Blanco	4 mm
SB3	M2	X			X				X		X			X	X			Blanco	10 mm
SB3	M3		X		X			X			X			X	X			Amarillo	1 mm
SB3	M4		X		X			X				X	X		X			Blanco	2 mm
SB3	M5	X			X				X		X			X	X			Blanco	2 mm
SB3	M6		X		X			X			X			X		X		Blanco	<1mm
SB3	M7		X		X			X				X		X	X			Amarillo	1,5 mm
SB3	M8	X			X				X		X			X	X			Blanco	2 mm
SB3	M9		X		X			X			X			X	X			Blanco	1,3 mm
SB3	M10		X		X			X			X		X		X			Blanco	1mm

Código	Morfofotoipo	Forma			Elevación			Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Pulvinada	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide		
SB3	M11	X			X			X			X			X	X			Blanco	10 mm
PB1	M1	X			X			X			X			X	X			Blanco	7 mm
PB1	M2		X		X		X			X		X		X	X			Blanco	1,2 mm
PB1	M3		X		X		X			X		X		X	X			Blanco	<1m m
PB2	M1		X		X		X			X		X		X	X			Beige	1mm
PB2	M2		X		X		X			X		X		X	X			Blanco	1mm
PB2	M3		X		X		X			X		X		X	X			Blanco	1mm
PB2	M4		X		X		X			X		X		X	X			Blanco	1mm
PB3	M1	X				X		X			X			X			X	Blanco	60 mm
PB3	M2		X		X		X				X			X	X			Blanco	1mm

Código	Morfotipo	Forma			Elevación			Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Pulvinada	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide		
PB3	M3	X			X			X				X		X				Blanco	1mm

Tabla 21. *Morfología de colonia primer muestreo*

Código	Morfotipo	Forma			Elevación		Borde			Superficie		Densidad			Consistencia			Color	Diámetro
		Puntiforme	Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
1VB1	M1			X		X		X		X			X	X				Beige	5 mm
1VB1	M2			X		X		X		X			X	X				Beige	2 mm
1VB1	M3	X				X		X		X			X	X				Beige	<1mm
1VB2	M1	X				X		X		X			X	X				Beige	<1mm
1VB3	M1		X			X		X			X		X	X				Blanco	7 mm
1VB3	M2		X			X			X		X		X			X		Beige	8 mm
1VB3	M3		X			X		X		X			X	X				Beige	2 mm

Código	Morfofoto	Forma				Elevación		Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Puntiforme	Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
1VB3	M4			X		X		X			X		X	X				Beige	1 mm
1VB3	M5		X				X		X	X		X			X			Transparente	4 mm
1VB4	M1		X			X			X	X		X		X				Beige	12 mm
1VB4	M2			X		X		X		X			X	X				Amarilla	3 mm
1VB4	M3			X		X		X			X		X	X				Beige	7 mm
1VB4	M4			X		X		X		X		X		X				Transparente	5 mm
1VB4	M5		X			X			X	X			X	X				Beige	13 mm
1VB4	M6		X			X			X		X		X			X		Blanco	20 mm
1VB4	M7		X			X		X		X		X		X				Beige	30 mm

Código	Morfofoto	Forma				Elevación		Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Puntiforme	Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
1VB4	M8		X			X			X		X			X				Beige	2 mm
1VB4	M9	X				X			X		X			X	X			Beige	<1mm
1VB4	M10		X			X			X			X				X		Amarillo	1 mm
1VB5	M1		X			X			X		X			X	X			Beige	5 mm
1VB5	M2			X		X		X			X			X	X			Beige	4 mm
1VB5	M3			X		X		X			X			X	X			Beige	3 mm
1VB5	M4			X		X		X			X			X	X			Amarillo	<1mm
1VB5	M5	X				X			X		X			X	X			Beige	<1mm

Código	Morfortipo	Forma				Elevación		Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Puntiforme	Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
1VB5	M6		X			X				X	X		X	X				Beige	<1m m
1VB6	M1		X			X			X		X		X				X	Beige	34 mm
1VB6	M2		X			X				X	X		X				X	Beige	40 mm
1VB6	M3		X			X			X		X		X	X				Beige	2 mm
1VB7	M1		X			X			X		X		X				X	Blanco	34 mm
1VB7	M2	X				X			X		X		X	X				Blanco	3mm
1VB7	M3		X			X			X		X		X				X	Blanco	4 mm
1VB7	M4			X		X		X			X		X	X				Beige	5 mm

Código	Morfofoto	Forma				Elevación		Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Puntiforme	Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
1SB1	M1			X		X		X			X		X	X				Blanco	1 mm
1SB1	M2			X			X	X			X		X			X		Amarillo	1 mm
1SB1	M3	X				X			X			X	X			X		Amarillo	20 mm
1SB2	M1			X		X		X			X		X	X				Amarillo	1 mm
1SB2	M2	X					X		X		X		X					Blanco	3 mm
1SB2	M3	X				X			X			X	X			X		Blanco	5 mm
1SB2	M4			X		X		X			X		X	X				Blanco	1 mm
1SB2	M5	X				X			X		X		X			X		Beige	2 mm
1SB2	M6			X		X		X			X		X	X				Beige	1 mm

Código	Morfortipo	Forma				Elevación		Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Puntiforme	Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
1SB3	M1			X		X		X			X		X	X				Beige	3 mm
1SB3	M2		X			X			X		X		X		X			Transparente	15 mm
1SB3	M3		X			X		X			X		X			X		Beige	2 mm
1SB3	M4		X			X		X			X		X			X		Amarillo	8 mm
1SB3	M5		X			X		X			X		X	X				Blanco	7 mm
1SB3	M6			X		X		X			X		X	X				Blanco	1 mm
1SB4	M1		X				X	X			X		X		X			Beige	5 mm
1SB4	M2		X			X		X			X		X			X		Beige	6 mm

Código	Morfofoto	Forma				Elevación		Borde			Superficie		Densidad			Consistencia			Color	Diámetro
		Puntiforme	Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo			
1SB4	M3			X		X		X				X		X	X			Beige	2 mm	
1SB4	M4			X		X		X				X		X			X	Beige	3 mm	
1SB4	M5			X		X		X				X		X	X			Blanco	1 mm	
1SB4	M6			X		X		X		X				X	X			Beige	<1mm	
1SB5	M1		X			X				X		X		X	X			Blanco	5 mm	
1SB5	M2		X			X			X		X			X	X			Beige	20 mm	
1SB5	M3	X				X			X		X			X	X			Beige	<1mm	
1SB5	M4			X		X		X			X			X	X			Beige	1 mm	

Código	Morfofoto	Forma				Elevación		Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Puntiforme	Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
1SB6	M1	X				X			X		X		X	X				Beige	2 mm
1SB6	M2	X				X		X				X	X			X		Beige	15 mm
1SB6	M3			X		X		X			X		X	X				Blanco	5 mm
1SB6	M4	X				X		X			X		X	X				Amarillo	2 mm
1SB6	M5			X		X		X			X		X	X				Beige	1 mm
1SB6	M6			X		X		X			X		X	X				Blanco	1 mm
1SB7	M1			X		X		X			X		X	X				Blanco	1 mm
1SB7	M2			X		X		X			X		X	X				Blanco	4 mm

Código	Morfortipo	Forma				Elevación		Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Puntiforme	Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
1SB7	M3			X		X		X			X		X	X			Beige	2 mm	
1SB7	M4		X			X			X		X		X	X			Blanco	4 mm	
1SB7	M5		X			X		X			X		X	X			Beige	6 mm	
1PB1	M1			X		X		X			X		X	X			Blanco	5 mm	
1PB1	M2	X				X			X		X		X	X			Beige	<1mm	
1PB1	M3		X			X			X		X		X	X			Blanco	2 mm	
1PB2	M1			X		X		X			X		X	X			Blanco	5 mm	
1PB2	M2		X			X			X		X		X	X			Beige	3 mm	

Código	Morfofoto	Forma				Elevación		Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Puntiforme	Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
1PB2	M3			X		X		X			X		X	X			Beige	2 mm	
1PB3	M1				X	X			X	X			X	X			Beige	60 mm	
1PB3	M2			X		X		X		X			X	X			Amarillo	1 mm	
1PB3	M3		X			X		X		X			X	X			Beige	3 mm	
1PB3	M4	X				X		X		X			X	X			Beige	<1mm	
1PB3	M5		X			X		X		X			X	X			Beige	3 mm	
1PB4	M1			X		X		X		X			X	X			Beige	1 mm	
1PB4	M2		X			X		X			X		X	X			Beige	2 mm	
1PB4	M3		X			X		X		X			X	X			Beige	3 mm	

Código	Morfofoto	Forma				Elevación		Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Puntiforme	Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
1PB4	M4	X				X			X		X		X	X				Beige	<1mm
1PB5	M1		X			X				X	X		X	X				Beige	15mm
1PB5	M2		X			X				X	X		X	X				Beige	15mm
1PB5	M3	X				X			X		X		X	X				Beige	<1mm
1PB5	M4			X		X		X			X		X	X				Beige	2mm
1PB6	M1		X			X			X		X		X	X				Beige	3mm
1PB6	M2		X			X			X		X		X	X				Beige	1mm
1PB7	M1		X			X			X			X	X	X				Blanco	2mm

Código	Morfofoto	Forma				Elevación		Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Puntiforme	Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
1PB7	M2	X				X			X		X		X	X				Beige	3 mm
1PB7	M3			X		X		X			X		X	X				Blanco	4 mm
1PB7	M4			X		X		X			X		X	X				Blanco	1 mm
1PB7	M5			X		X			X		X		X	X				Beige	5 mm
1PB7	M6		X			X			X		X		X	X				Beige	1 mm
1TB1	M1			X		X		X			X		X	X				Beige	2 mm
1TB1	M2		X			X			X		X		X	X				Beige	5 mm
1TB2	M1		X				X		X		X		X		X			Blanco	6 mm
1TB2	M2			X		X		X			X		X	X				Beige	2 mm

Código	Morfofoto	Forma				Elevación		Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Puntiforme	Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
1TB2	M3		X			X			X		X		X	X				Beige	1 mm
1TB2	M4	X				X			X		X		X	X				Beige	<1mm
1TB3	M1			X		X		X			X		X	X				Beige	1 mm
1TB3	M2	X				X			X		X		X	X				Beige	<1mm
1TB3	M3			X		X		X			X		X	X				Beige	2 mm
1TB4	M1		X			X			X		X		X	X				Beige	2 mm
1TB4	M2		X			X			X		X		X	X				Beige	2 mm
1TB4	M3	X				X			X		X		X	X				Beige	<1mm

Código	Morfofoto	Forma				Elevación		Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Puntiforme	Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
1TB5	M1	X				X			X		X		X	X			Beige	4 mm	
1TB5	M2			X		X		X		X			X	X			Beige	2 mm	
1TB6	M1	X				X		X		X			X	X			Beige	<1mm	
1TB6	M2		X			X			X		X		X	X			Beige	2 mm	
1TB7	M1			X		X		X		X			X	X			Blanco	3 mm	
1TB7	M2			X		X			X		X		X	X			Blanco	5 mm	
1TB7	M3		X			X			X		X		X	X			Beige	2 mm	
1TB7	M4	X				X			X		X		X	X			Beige	<1mm	
1TB7	M5	X				X			X		X		X	X			Amarillo	<1mm	

Código	Morfofotoipo	Forma				Elevación		Borde		Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Puntiforme	Irregular	Circular	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide		
1TB7	M6	X				X			X		X		X	X			Blanco	3 mm
1TB7	M7	X				X			X		X		X	X			Amarillo	5 mm

Tabla 22. *Morfología segundo muestreo*

Código	Morfo tipo	Forma					Elevación			Borde			Superficie		Densidad			Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	puntiforme filamentosa	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo				
2V B1	M1		X			X		X					X			X	X			Beige	>1 mm	
	M2		X			X		X						X		X	X			Blanco	1 mm	
	M3	X				X			X					X		X	X			Blanco	5 mm	
	M4	X				X				X				X		X		X		Beige	7 mm	
	M5		X			X		X						X		X	X			Amari lla	>1 mm	
2V B2	M1	X					X		X				X		X	X				Amari lla	2 mm	
	M2			X		X		X					X		X	X				Beige	>1 mm	
	M3		X					X	X				X		X	X				Rojo	>1 mm	

Código	Morfotipo	Forma				Elevación			Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	puntiforme filamentosa	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
	M4	X				X		X				X			X	X			Beige	2mm
	M5		X					X	X			X			X	X			Amari lla	1 mm
2V B3	M1			X		X				X			X		X		X		Blanc a	7 mm
	M2	X				X				X		X			X	X			Beige	2mm
	M3		X			X		X				X			X	X			Beige	1 mm
	M4				X	X				X		X			X	X			Blanc o	1 mm
	M5		X			X		X				X			X	X			Beige	>1mm
	M6	X				X				X		X			X	X			Blanc o	7 mm
	M7	X				X		X		X		X			X	X			Beige	7 mm

Código	Morfotipo	Forma				Elevación			Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	puntiforme filamentosa	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
2V B4	M1		X			X		X					X		X	X			Amari lla	>1m m
	M2		X			X		X							X	X	X		Blanc o	4 mm
	M3	X				X			X				X		X	X			Blanc o	8m m
	M4		X			X		X							X	X	X		Blanc o	3m m
2V B5	M1			X		X				X				X	X	X			Beige	6m m
	M2	X		X				X	X					X	X			X	Beige	3m m
	M3	X						X			X			X	X			X	Blanc a	7 mm
	M4		X					X	X					X	X	X			Rojo	>1 mm
	M5		X					X	X					X	X	X			Amari lla	>1 mm

Código	Morfotipo	Forma				Elevación			Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	puntiforme filamentosa	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
	M6			X		X		X					X			X			Blanca	>1 mm
	M7		X			X		X							X	X	X		Beige	7 mm
	M8		X			X		X					X		X	X			Amari lla	4 mm
	M9	X				X			X				X		X				Beige	4 mm
2V B6	M1		X					X	X				X		X	X			Rojo	>1 mm
	M2	X				X			X					X	X				Beige	3 mm
	M3			X		X				X				X	X				Blanco	10 mm
	M4	X				X			X					X	X				Blanco	10 mm
	M5	X							X				X		X				Beige	5 mm

Código	Morfotipo	Forma				Elevación			Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	puntiforme filamentosa	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
2V B7	M1		X			X		X					X		X	X			Blanco	2mm
	M2	X				X			X					X			X		Beige	3mm
	M3	X				X				X	X				X	X			Blanco	2mm
	M4	X				X			X					X	X	X			Blanca	4mm
	M5			X		X		X					X		X	X			Beige	<1mm
2TB 1	M1		X			X		X					X		X	X			Beige	>1mm
	M2		X			X		X					X		X	X			Beige	1mm
	M3		X			X		X					X		X	X			Beige	2mm
2TB 2	M1		X			X		X					X		X	X			Beige	5mm

Código	Morfotipo	Forma				Elevación			Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	puntiforme filamentosa	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
	M2		X			X		X					X		X				Blanco	1 mm
	M3	X				X				X				X			X		Beige	1 mm
	M4	X				X				X		X			X	X			Blanco	1 mm
	M5		X					X	X				X		X	X			Rojo	>1 mm
2TB 3	M1		X			X		X					X		X	X			Blanco	2 mm
	M2			X		X		X					X	X	X	X			Blanco	>1 mm
	M3		X			X		X					X		X	X			Amari lla	>1m m
	M4		X			X		X					X		X	X			Beige	5 mm
2TB 4	M1		X			X		X					X		X	X			Amari lla	>1m m

Código	Morfotipo	Forma				Elevación			Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	puntiforme filamentosa	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
	M2		X			X		X					X		X	X			Blanco	4 mm
	M3		X			X		X					X		X	X			Amari lla	>1m m
	M4	X							X				X		X				Beige	5 mm
	M5	X				X			X				X		X		X		Beige	6 mm
2TB 5	M1	X				X			X				X		X	X			Beige	20 mm
	M6		X			X		X					X		X	X			Amari lla	6 mm
2TB 6	M1		X			X		X					X		X	X			Beige	3m m
	M2	X				X			X				X		X	X			Beige	5 mm
	M3	X				X			X				X		X	X			Blanc a	3 mm

Código	Morfotipo	Forma				Elevación			Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	puntiforme filamentosa	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
	M4	X				X		X					X		X	X			Blanca	15 mm
	M5	X				X			X					X	X	X			Beige	2 mm
2TB 7	M1	X				X			X				X		X	X			Beige	8 mm
2SB 1	M1		X					X						X	X	X			Blanco	7 mm
	M2		X			X		X					X		X	X			Amari lla	4 mm
	M3	X				X				X			X		X		X		Beige	1 mm
	M4	X				X			X				X		X		X		Beige	6 mm
2SB 2	M1	X				X			X				X		X		X		Beige	6 mm
	M2		X			X		X					X		X	X			Blanco	1 mm

Código	Morfotipo	Forma				Elevación			Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	puntiforme filamentosa	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
2SB 3	M1	X				X			X				X		X				Beige	4 mm
	M2	X				X			X					X	X		X		Beige	6 mm
	M3		X			X		X					X		X	X			Blanco	2m m
2SB 4	M1		X			X		X					X		X	X			Amari lla	>1m m
	M2		X			X		X					X		X	X			Beige	4 mm
	M3	X				X			X				X		X	X			Blanco	2m m
	M4	X				X			X				X		X				Blanco	3 mm
	M5	X				X			X				X		X				Beige	5 mm
2SB 5	M1		X			X		X					X		X	X			Amari lla	>1m m

Código	Morfotipo	Forma				Elevación			Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	puntiforme filamentosa	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
	M2		X			X		X						X		X	X		Blanco	1 mm
	M3		X			X		X					X		X	X		Blanco	5 mm	
	M4	X				X			X					X	X	X		Blanca	3 mm	
2SB 6	M1		X			X		X					X		X	X		Amari lla	>1m m	
	M2	X				X				X				X			X	Beige	1 mm	
	M3	X				X			X				X		X			Beige	5 mm	
	M4	X				X			X				X		X			Beige	2 mm	
	M5	X				X			X				X		X	X		Beige	5 mm	
2SB 7	M1		X			X		X					X		X	X		Amari lla	8 mm	

Código	Morfotipo	Forma				Elevación			Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	puntiforme filamentosa	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
	M2		X				X	X				X			X	X			Rojo	>1 mm
	M3	X				X			X			X			X				Beige	5 mm
	M4		X			X		X				X			X	X			Amari lla	2 mm
	M5	X				X			X				X		X		X		Beige	6 mm
	M6	X				X			X				X		X	X			Blanc a	9 mm
2PB 1	M1	X				X				X		X			X	X			Blanc o	12 mm
	M2	X				X			X			X			X	X			Beige	8 mm
2PB 2	M1	X				X			X			X			X	X			Beige	4 mm
	M2	X				X				X			X		X		X		Beige	15 mm

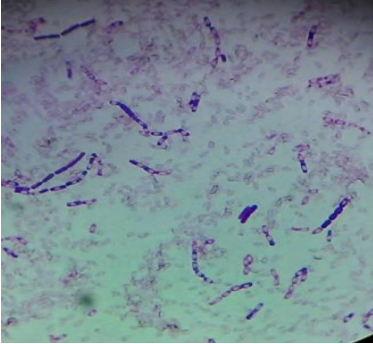
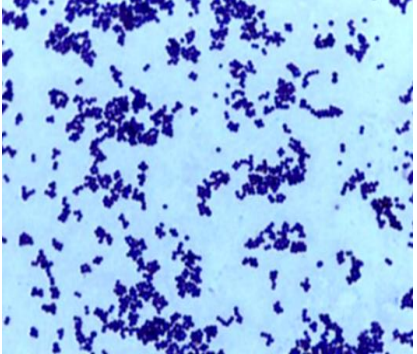
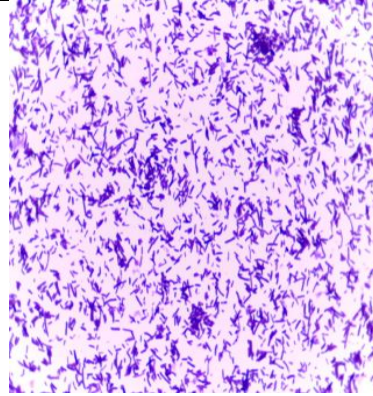
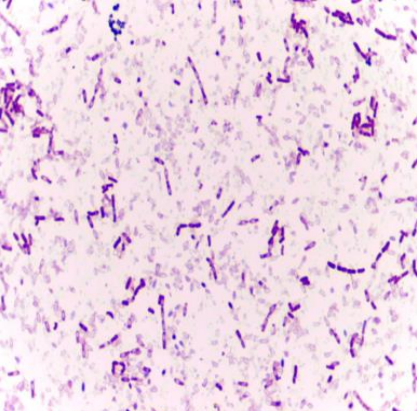
Código	Morfotipo	Forma				Elevación			Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	puntiforme filamentosa	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
	M3	X				X			X				X		X			X	Blanca	15 mm
	M4		X			X		X					X		X	X			Beige	3 mm
2PB3	M1	X				X			X				X		X	X			Blanca	1 mm
	M2		X			X		X					X		X	X			Amari lla	1 mm
2PB4	M1	X				X				X			X		X	X			Beige	12 mm
	M2	X				X				X			X		X		X		Beige	15 mm
	M3	X				X				X			X		X	X			Beige	10 mm
	M4	X				X			X				X		X	X			Blanca	13 mm
2PB5	M1	X				X			X				X		X	X			Blanca	9 mm

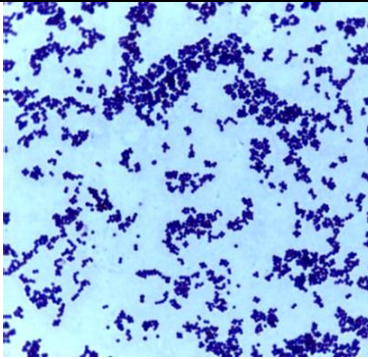

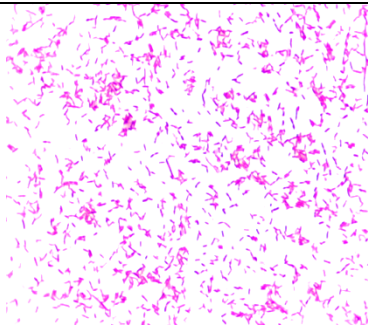
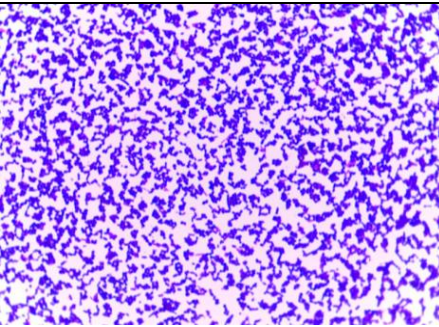
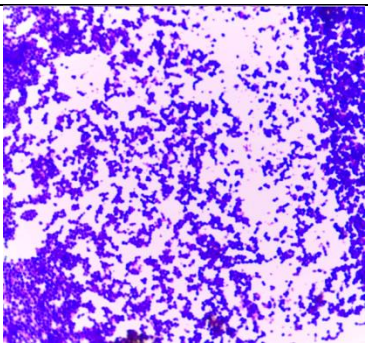
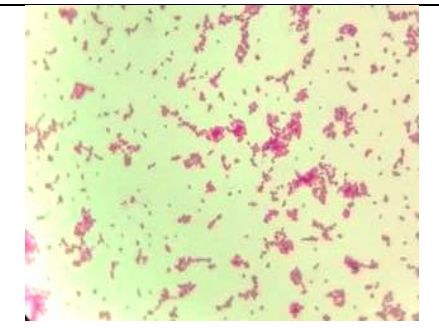
Código	Morfotipo	Forma				Elevación			Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	puntiforme filamentosa	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
	M2		X			X		X					X		X				Amari lla	1 mm
	M3	X					X		X				X		X				Beige	3 mm
	M4		X			X		X					X		X				Beige	1 mm
2PB 6	M1	X				X				X		X		X				X	Beige	6 mm
	M2	X				X				X		X		X				X	Beige	5 mm
	M3	X				X				X		X		X				X	Beige	4 mm
	M4		X			X		X				X		X		X			Amari lla	3 mm
	M5		X				X	X				X		X		X			Rojo	>1 mm
	M6	X				X				X		X		X				X	Beige	15 mm

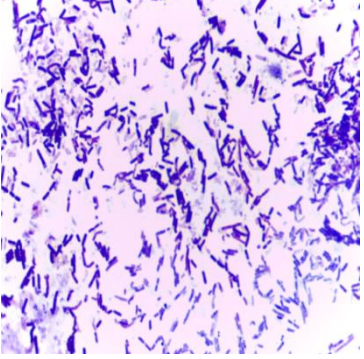
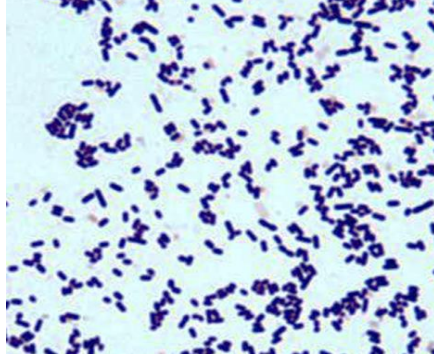

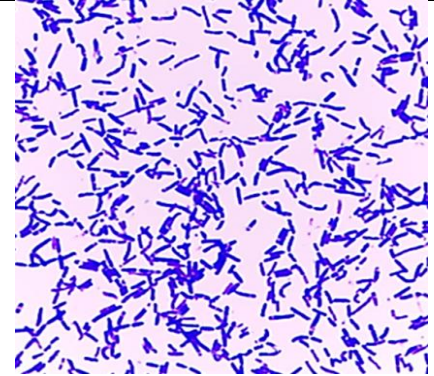
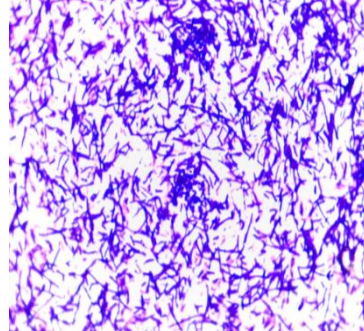
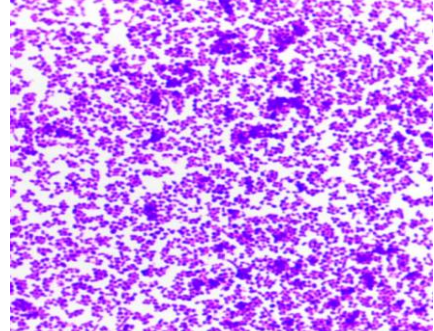
Código	Morfotipo	Forma				Elevación			Borde			Superficie		Densidad		Consistencia			Color	Diámetro
		Irregular	Circular	puntiforme filamentosa	Rizoide	Plana	Elevada	Entero	Ondulado	Filamentoso	Lobulado	Brillante	Cerosa	Transparente	Opaca	Cremosa	Mucoide	Pétreo		
M7	X					X			X				X	X				X	Beige	6 mm
2PB 7	M1		X			X		X					X		X			X	Beige	>1m m

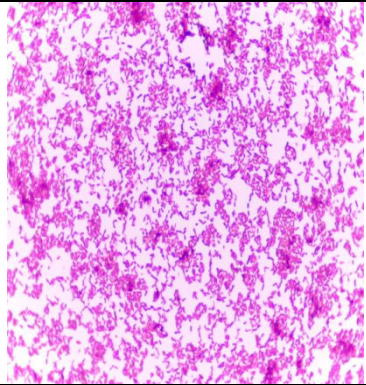
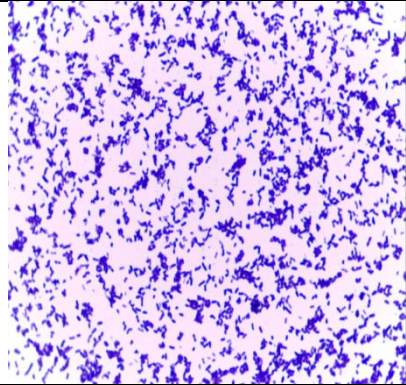
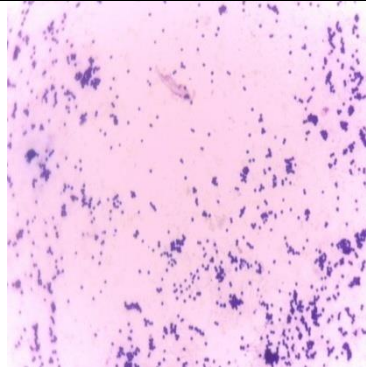

Anexo E. Descripción de la morfología celular.

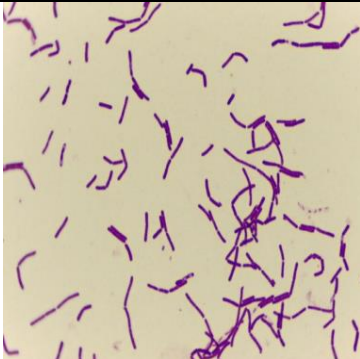
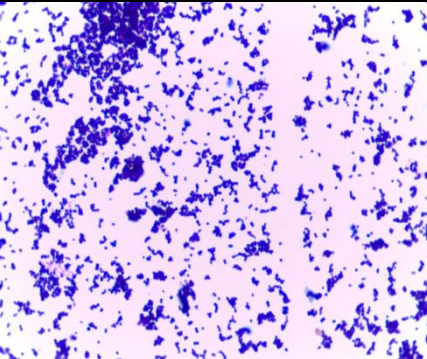
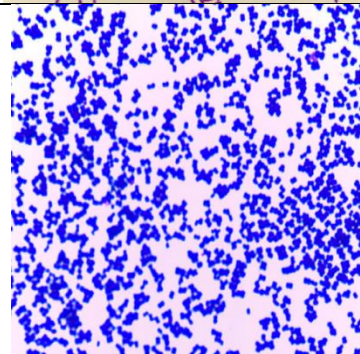
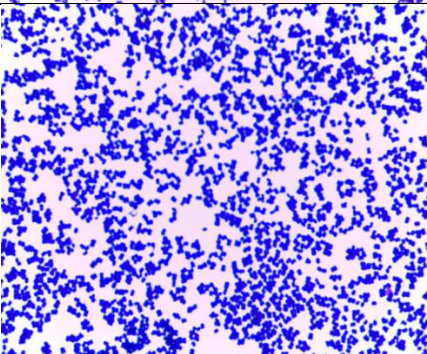
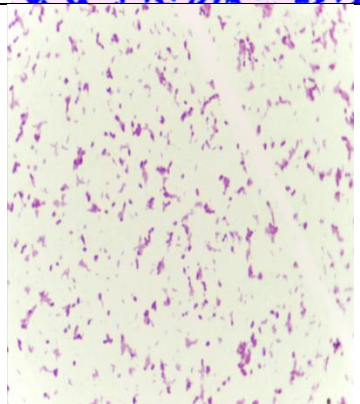
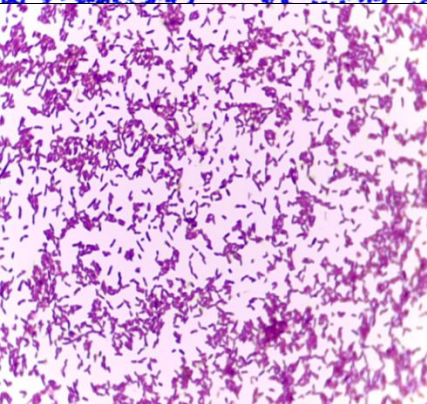
Cuadro 3. Descripción de la morfología celular de cada morfotipo aislado en muestreo preliminar (Software LAS EZ, Versión 3.1.0, 2015)

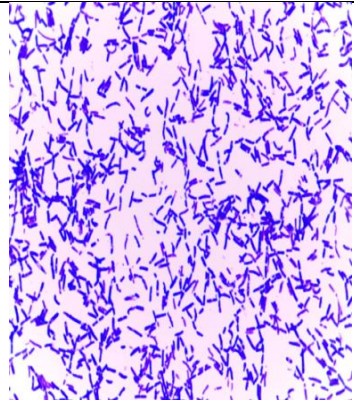
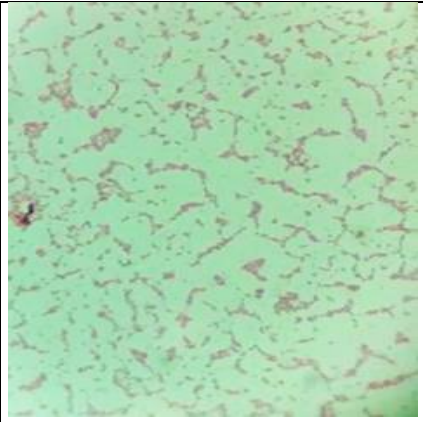
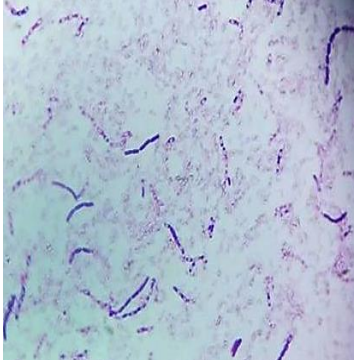
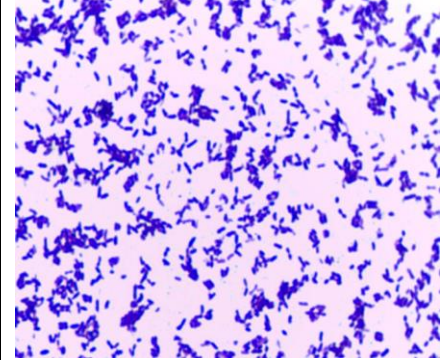
Ventana					
Código	Descripción	Micrografía	Código	Descripción	Micrografía
VB1 M1	Bacilos grampositivos esporulados en cadena (estreptobacilos)		VB1 M2	Cocos grampositivos en racimo.	
VB1 M3	Bacilos grampositivos no esporulados, la mayoría en cadenas cortas.		VB1 M4	Bacilos grampositivos esporulados la mayoría en cadena. (estreptobacilos)	

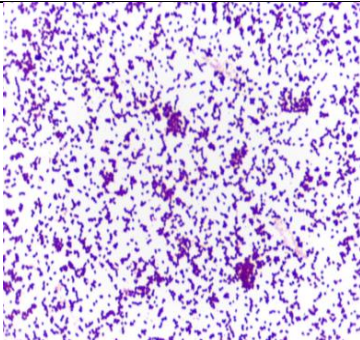
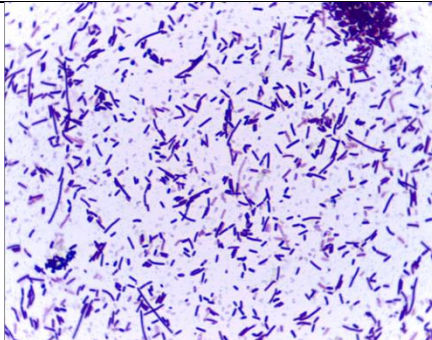
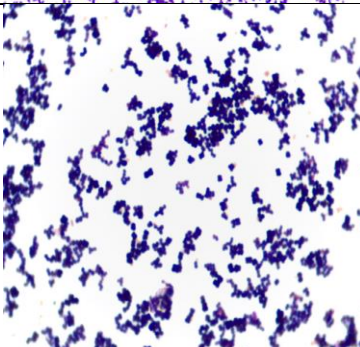
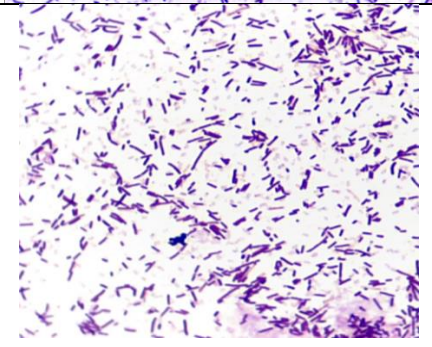

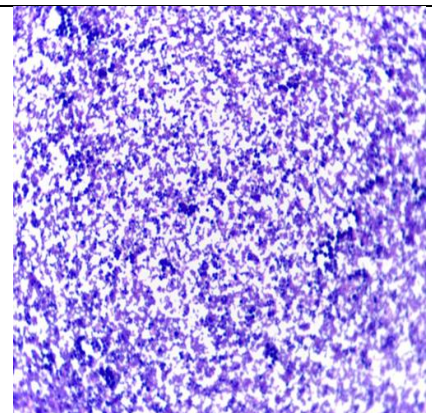
VB1 M5	Cocos grampositivos en racimo (estafilococos)		VB1 M6	Bacilos grampositivos esporulados la mayoría en cadena (estreptobacilos)	
VB1 M7	Bacilo gramnegativo		VB1 M8	Cocos grampositivos en racimo (estafilocos)	
VB1 M9	Cocos grampositivos en racimo pequeños (estafilocos)		VB1 M10	Bacilos gramnegativos	


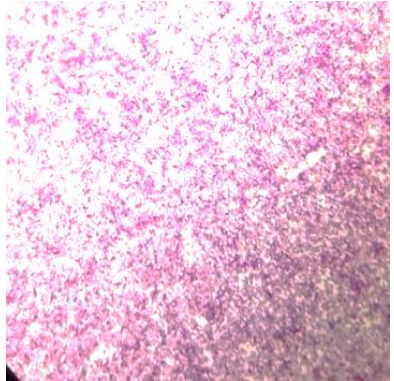
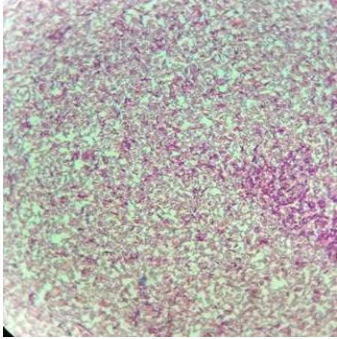
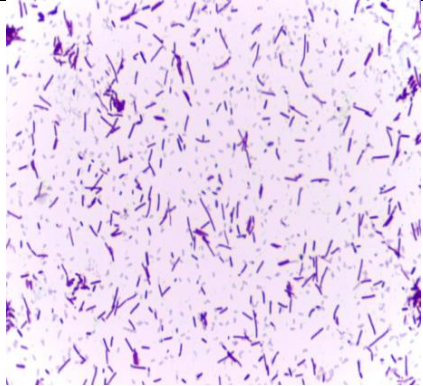


VB2 M1	Bacilos grampositivos esporulados la mayoría en cadena (estreptobacilos)		VB2 M2	Bacilos grampositivos no Esporulado.	
VB2 M3	Bacilos grampositivos no Esporulados en cadena.		VB3 M1	Bacilos grampositivos esporulados la mayoría en cadena (estreptobacilos)	
VB3 M2	Bacilos grampositivos no Esporulados en cadena.		VB3 M3	Cocos grampositivos en racimo (estafilococos)	

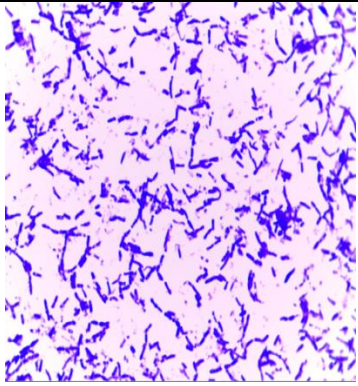
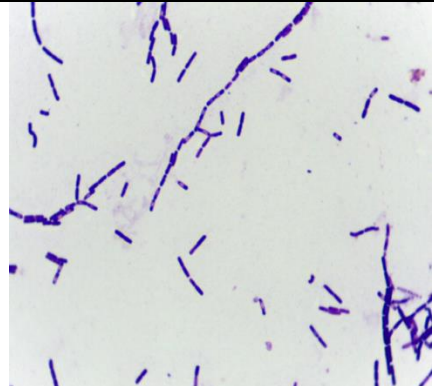
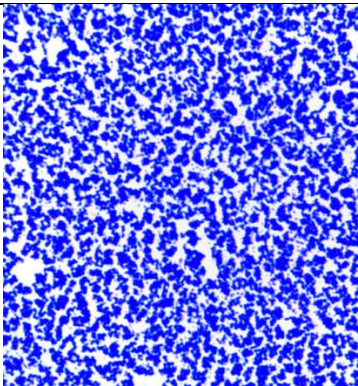
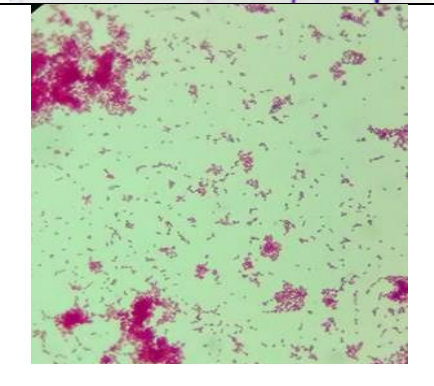
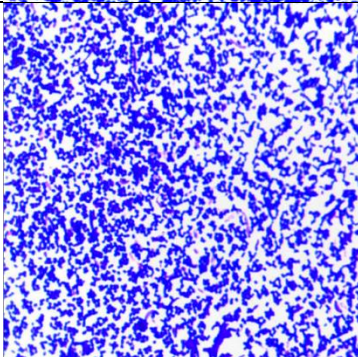
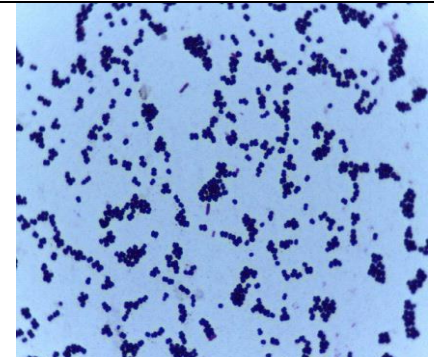
VB3 M4	Bacilos gramnegativos		VB3 M5	Bacilos grampositivos esporulados, la mayoría en cadena.	
TIMBRE					
Código	Descripción	Micrografía	Código	Descripción	Micrografía
TB1 M1	Cocos grampositivos en racimo pequeños.		TB1 M2	Bacilos gramnegativos	


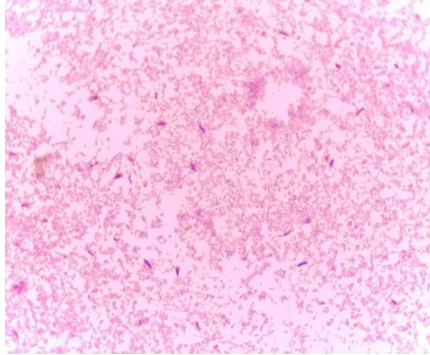
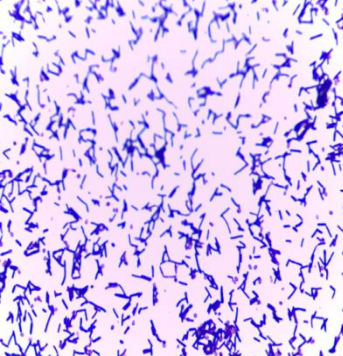
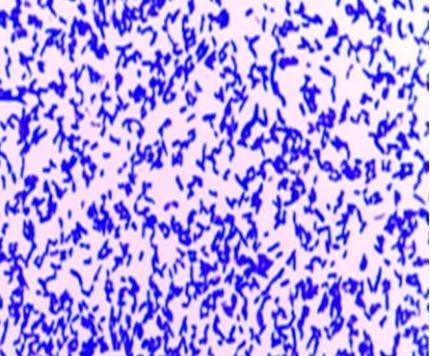
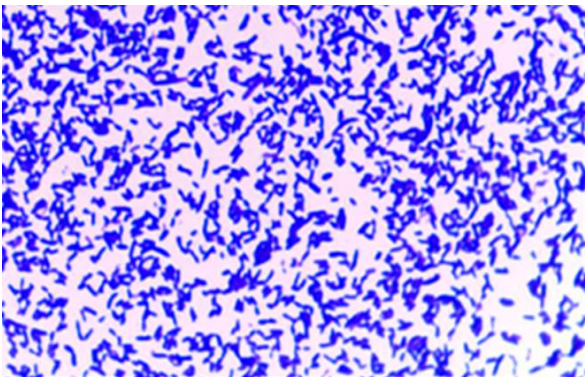
TB1 M3	Bacilos grampositivos no Esporulados en cadena.		TB2 M1	Cocos grampositivos muy pequeños en racimo	
TB2 M2	Cocos grampositivos en racimo		TB2 M3	Cocos grampositivos en racimo	
TB2 M4	Bacilos gramnegativos		TB2 M5	Bacilos grampositivos no esporulados	

TB3 M1	Bacilo grampositivos esporulados en cadena (estreptobacilo)		TB3 M2	Bacilos gramnegativos	
SILLA					
Código	Descripción	Micrografía	Código	Descripción	Micrografía
SB1 M1	Bacilos gram positivos esporulados la mayoría en cadena (estreptobacilo)		SB1 M2	Bacilos grampositivos no esporulados.	

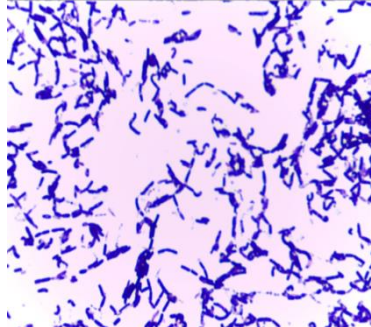
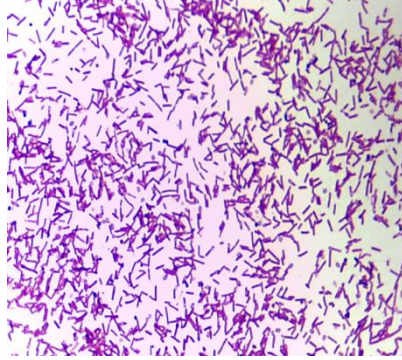
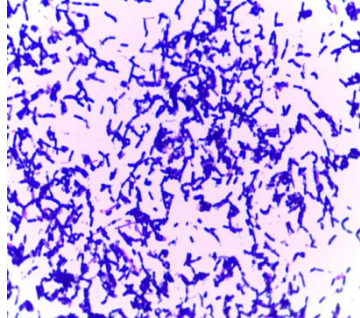
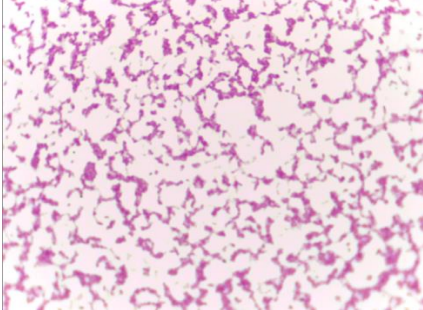
SB1 M3	Cocos grampositivos en racimo (estafilococos)		SB1 M4	Bacilos grampositivos no esporulados.	
SB1 M5	Cocos grampositivos en racimo (estafilococos)		SB1 M6	Bacilos grampositivos esporulados la mayoría en cadena (estreptobacilos)	
SB1 M7	Bacilos grampositivos esporulados.		SB1 M8	Cocos en racimo, algunos diplococos grampositivos	

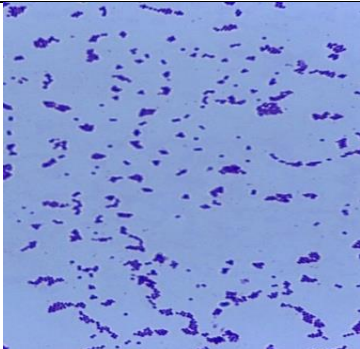
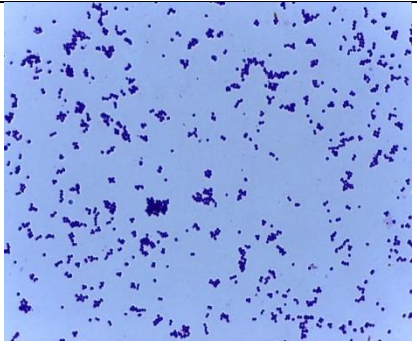
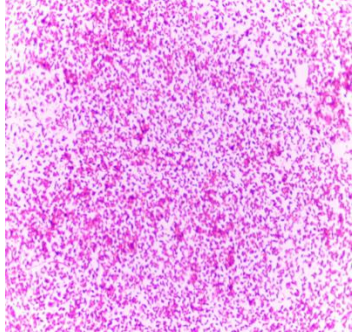
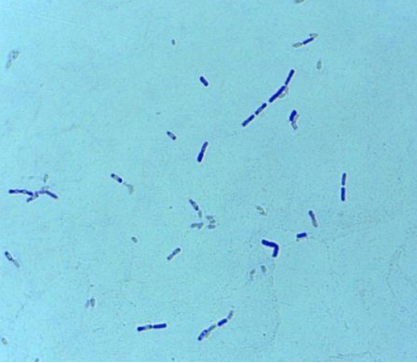
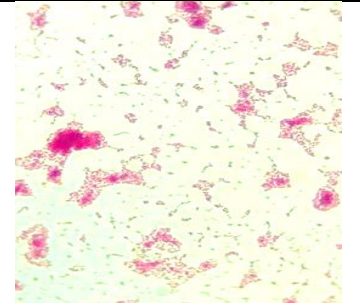
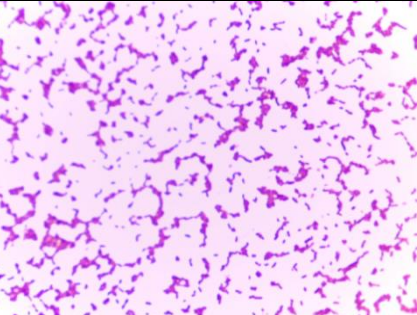
SB1 M10	Bacilos grampositivos no esporulados en cadenas cortas.		SB1 M11	Bacilos gramnegativos	
SB1 M12	Bacilos gramnegativos		SB2 M1	Bacilos grampositivos esporulados en cadenas cortas.	
SB2 M2	Bacilos grampositivos no esporulados en cadenas cortas.		SB2M3	Bacilos grampositivos no esporulados en cadenas cortas.	

SB3 M1	Bacilos grampositivos esporulados la mayoría en cadena (Streptobacilo)		SB3 M2	Bacilos grampositivos esporulados en cadena. (Streptobacilos)	
SB3 M3	Cocos grampositivos en racimo (estafilococos)		SB3 M4	Bacilos gramnegativos	
SB3M5	Cocos grampositivos en racimo pequeños.		SB3 M6	Cocos grampositivos en racimo	

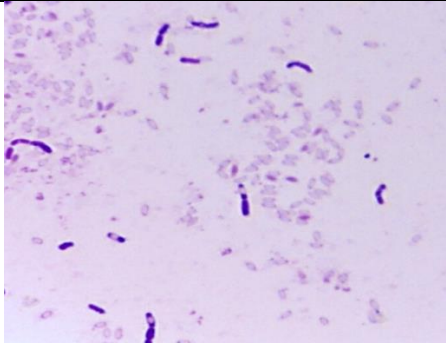
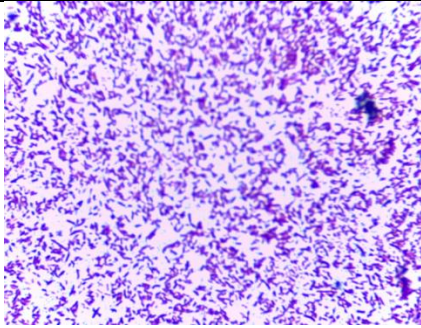
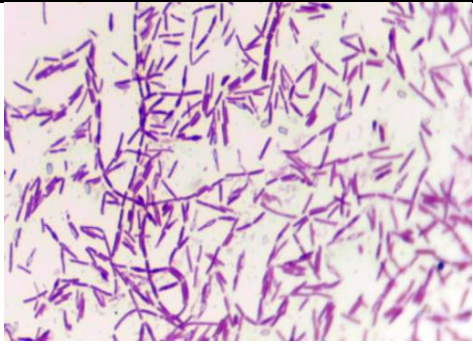
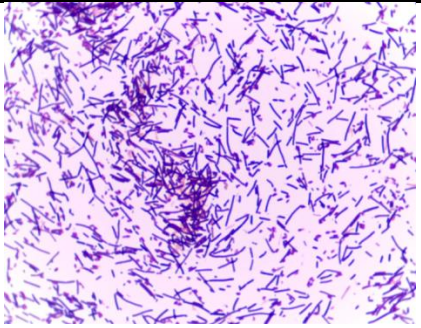
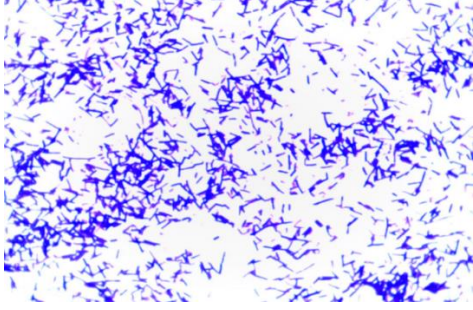
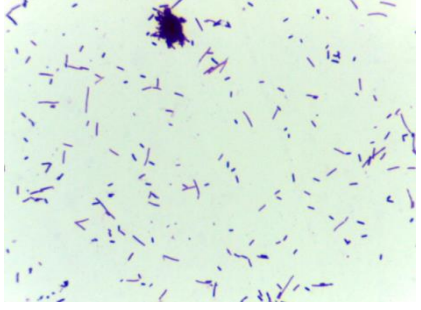
SB3 M7	Bacilos grampositivos no esporulados.		1SB3 M8	Bacilo gramnegativo	
SB3 M9	Bacilos grampositivos esporulados		SB3 M10	Bacilos grampositivos no esporulados.	
SB3 M11	Bacilos grampositivos no esporulados.				

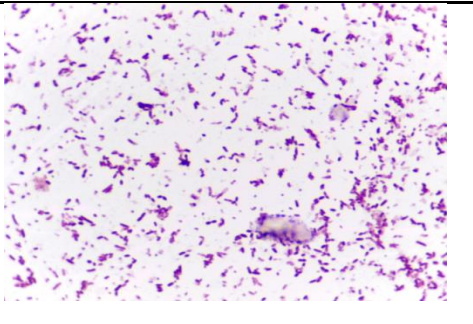
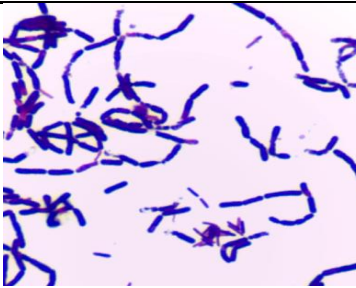
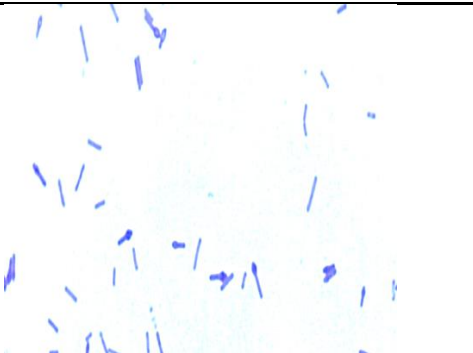
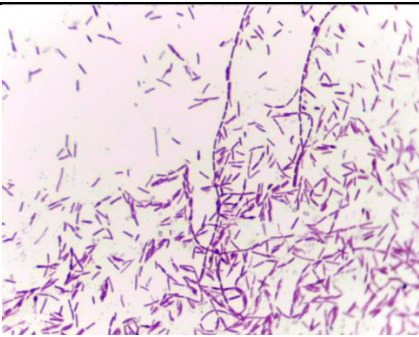
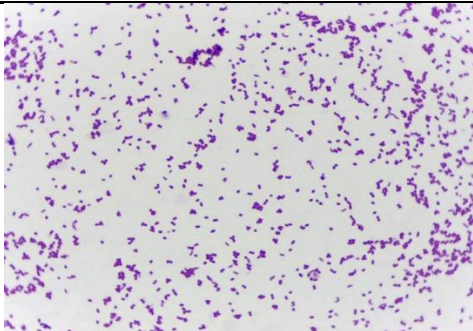
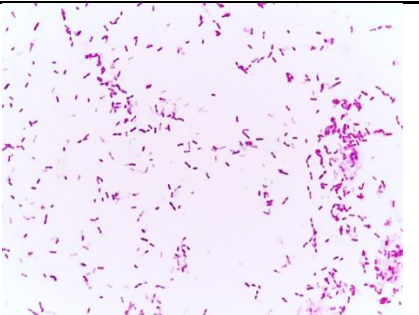
PASAMANOS

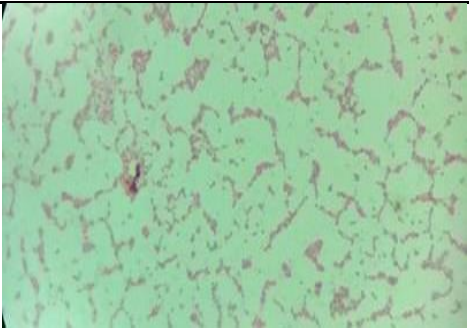
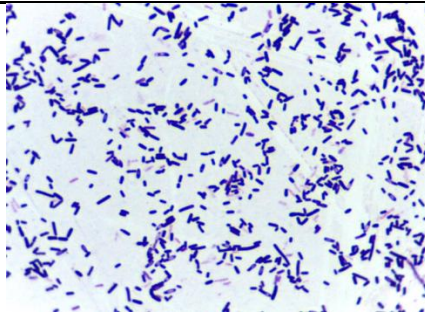
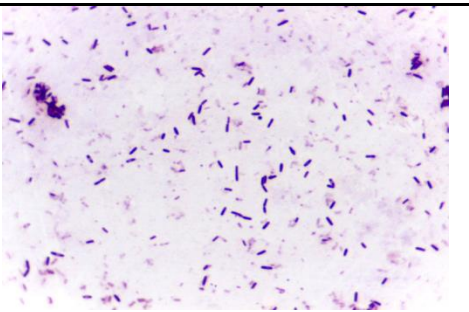
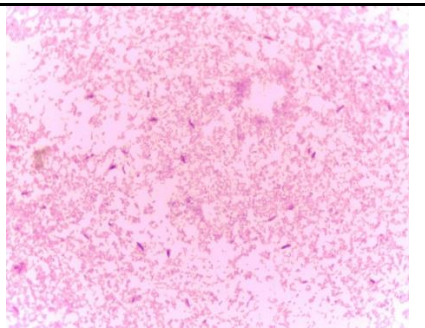
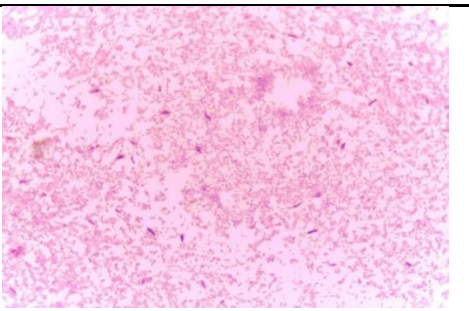
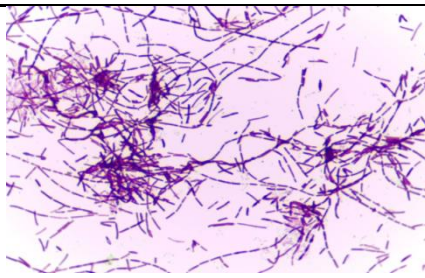
PASAMANOS					
Código	Descripción	Micrografía	Código	Descripción	Micrografía
PB1 M1	Bacilos grampositivos no esporulados.		PB1 M2	Bacilo grampositivos no esporulados.	
PB1 M3	Bacilos grampositivos esporulados.		PB2 M1	Bacilos gramnegativos	

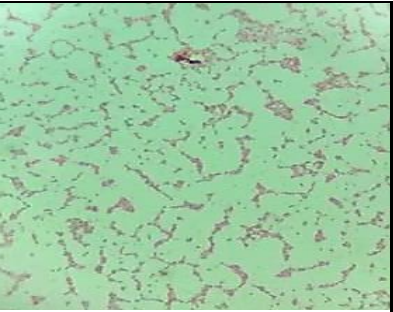
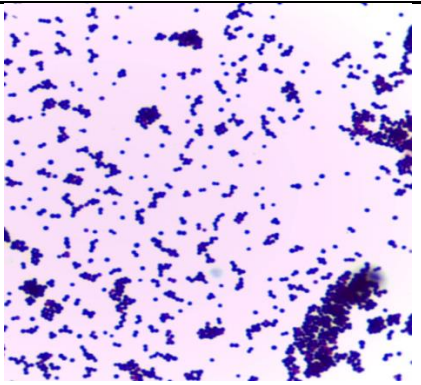
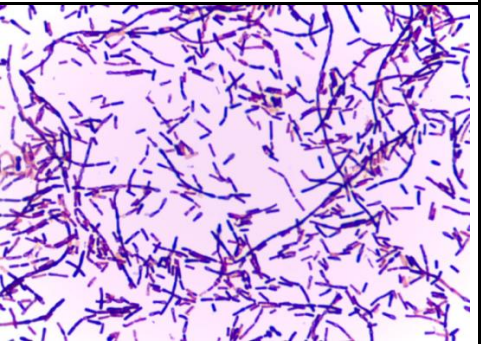
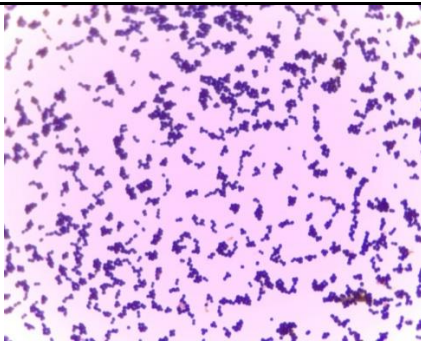
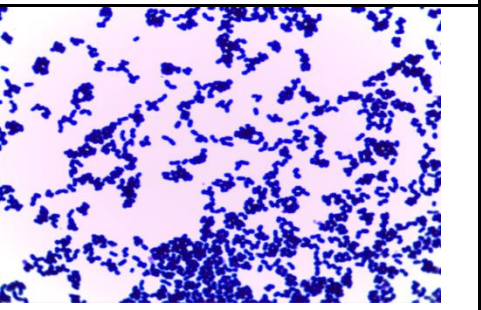
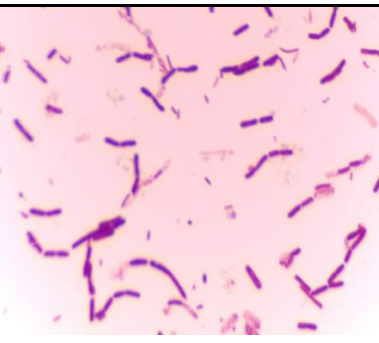
PB2 M2	Cocos grampositivos en racimo		PB2 M3	Cocos grampositivos en racimo	
PB2 M4	Bacilos gramnegativos		PB3 M1	Bacilos grampositivos esporulados.	
PB3 M2	Bacilos gramnegativos		PB3 M3	Bacilos gramnegativos.	

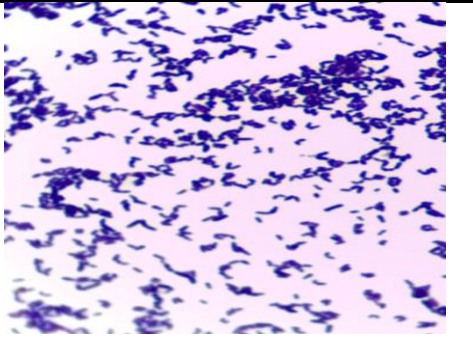
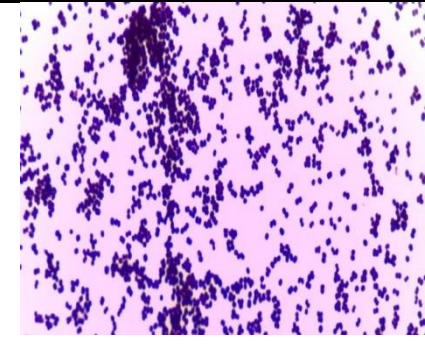
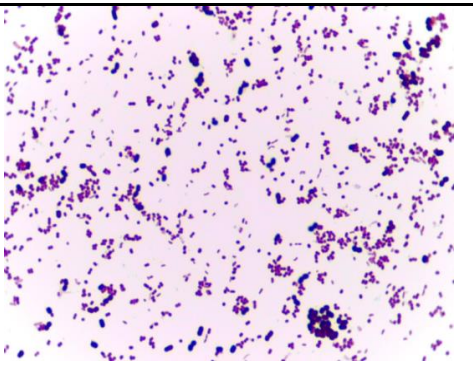
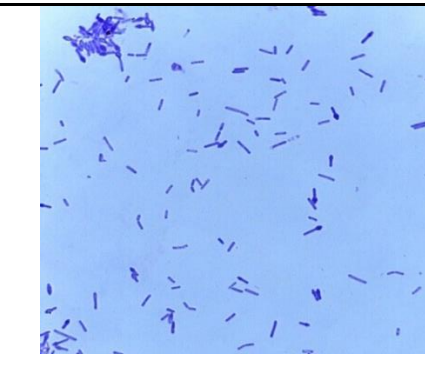


Cuadro 4. Descripción de la morfología celular de cada morfotipo aislado en primer muestreo

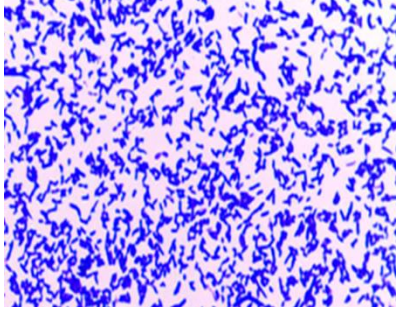
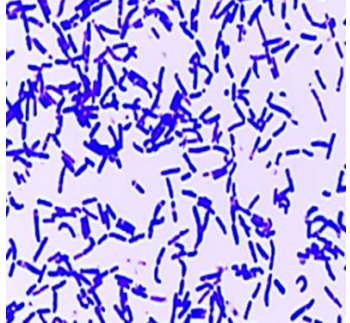
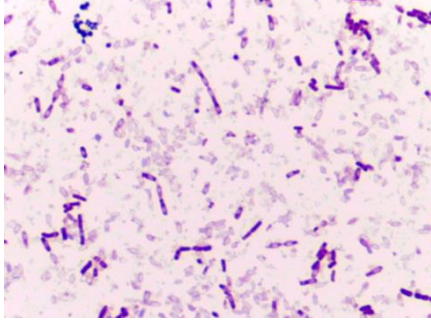
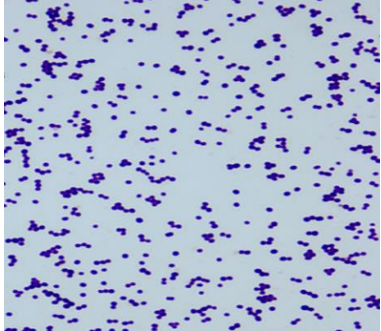
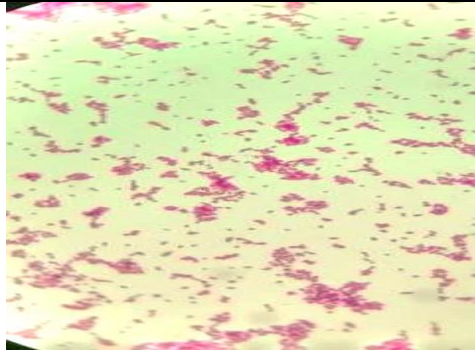
Ventana					
Código	Descripción	Micrografía	Código	Descripción	Micrografía
1VB1 M1	Bacilos grampositivos esporulados en cadenas cortas.		1VB1 M2	Cocos grampositivos pequeños en racimos	
1VB1 M3	Bacilos grampositivos no esporulados		1VB2 M1	Bacilos grampositivos en cadena no esporulados	
1VB3 M1	Bacilos grampositivos no esporulados		1VB3 M2	Bacilos grampositivos no esporulados	


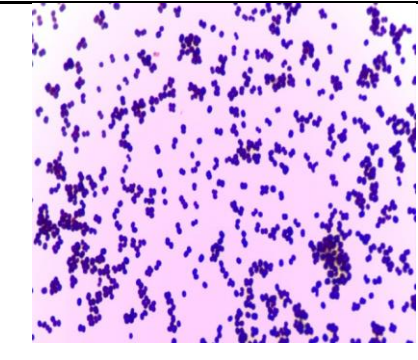
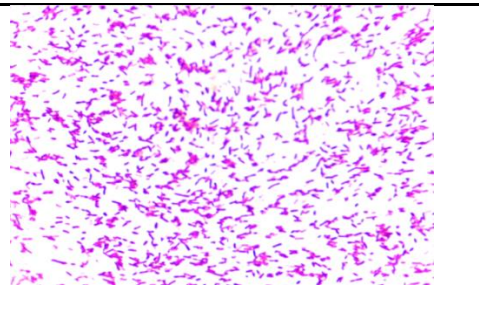
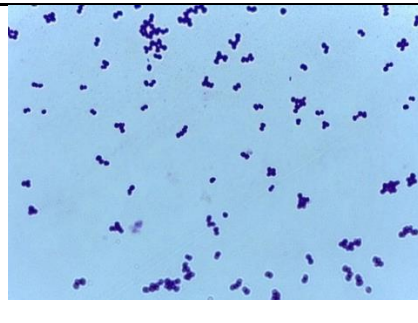
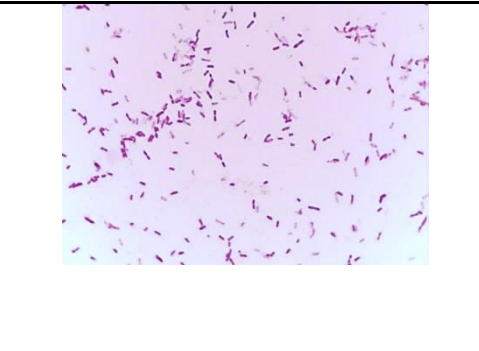
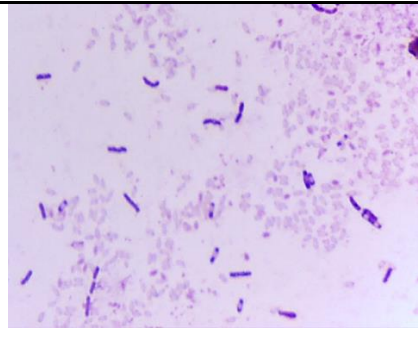
1VB3 M3	Bacilos grampositivos esporulados		1VB3 M4	Bacilos grampositivos no esporulados	
1VB3 M5	Bacilos grampositivos no Esporulados		1VB4 M1	Bacilos grampositivos no esporulados	
1VB4 M2	Cocos grampositivos en racimo		1VB4 M3	Bacilos grampositivos no Esporulados	

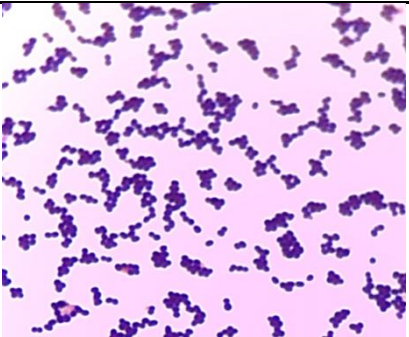


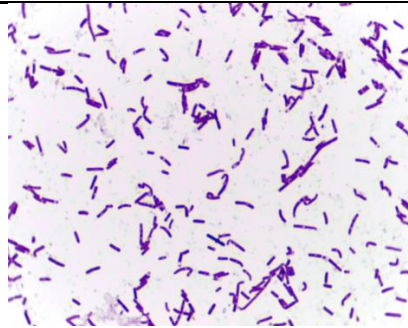
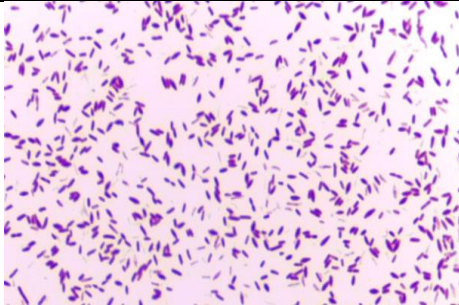
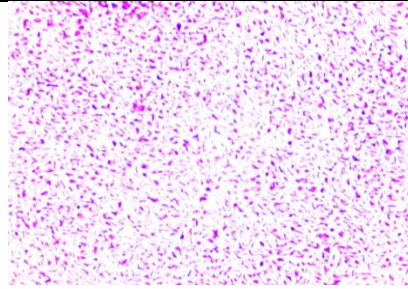
1VB4 M4	Bacilos gramnegativos		1VB4 M5	Bacilos grampositivos esporulados.	
12VB4 M6	Bacilo grampositivos esporulados.		1VB4 M7	Bacilos gramnegativos	
1VB4 M7	Bacilos gramnegativos		1VB4 M8	Bacilos grampositivos no esporulados	

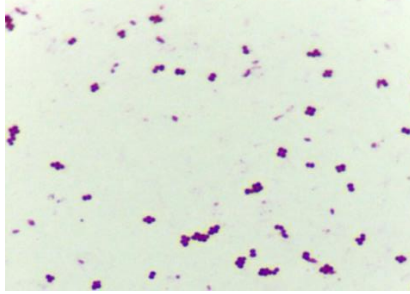
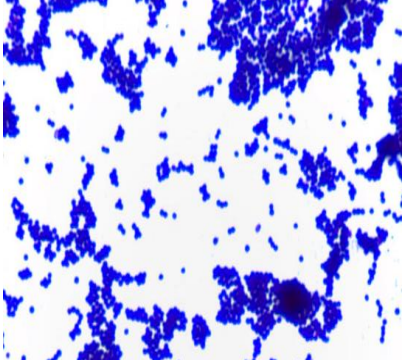
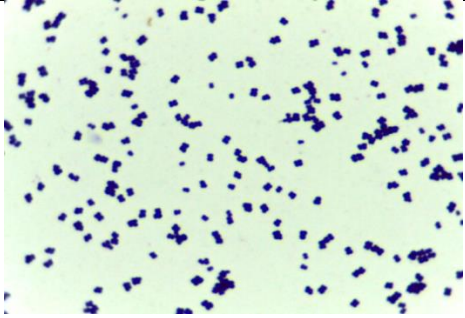
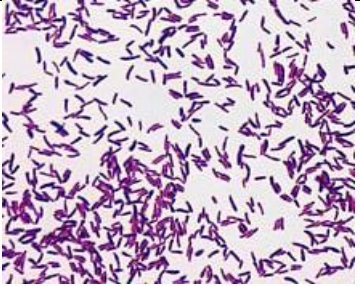
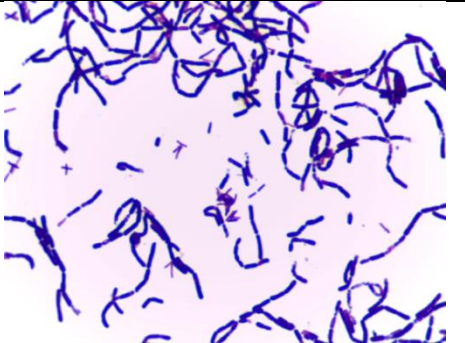
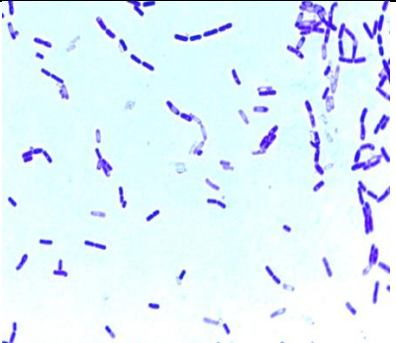
1VB4 M9	Bacilos gramnegativos		1VB4 M10	Cocos grampositivos en racimo (estafilococos)	
1VB5 M1	Bacilos grampositivos esporulados en cadena cortas		1VB5 M2	Cocos grampositivos en racimo (estafilococos)	
1VB5 M3	Cocos grampositivos en racimo (estafilococos)		1VB5 M4	Bacilos grampositivos no esporulados en cadena	

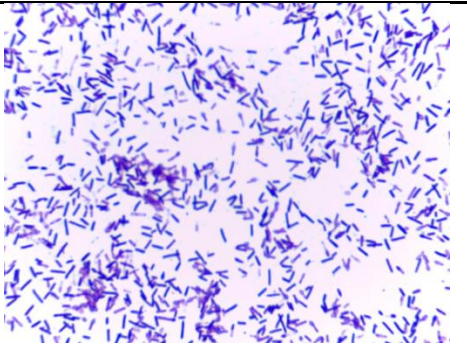
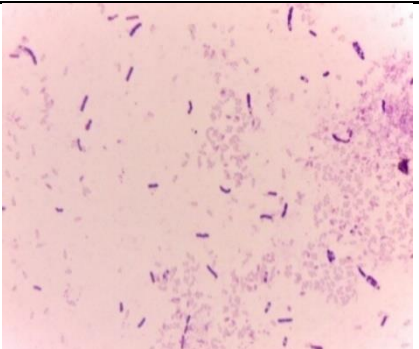
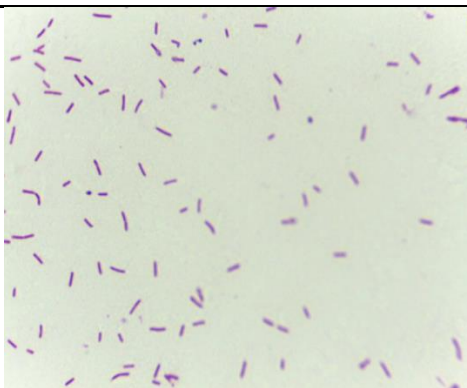
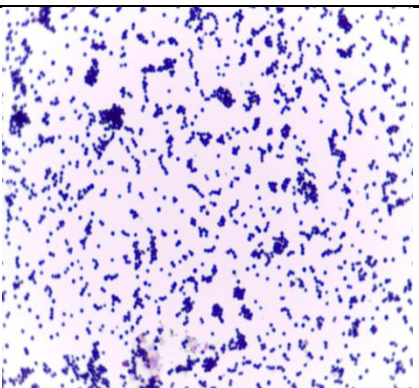
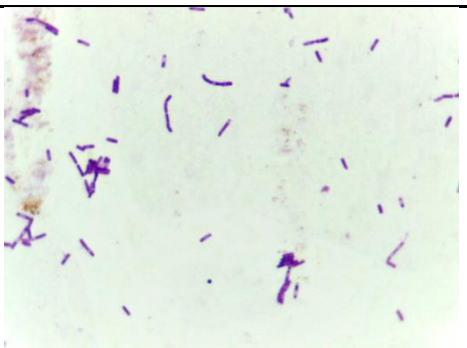

1VB5 M5	Bacilos grampositivos no esporulados		1VB5 M6	Cocos grampositivos en racimo (estafilococos)	
1VB5 M7	Cocos grampositivos (diplococos)		1VB5 M8	Bacilos grampositivos no esporulados en cadenas cortas	
1VB6 M1	Bacilos grampositivos esporulados en cadena (estreptobacilos)		1VB6 M2	Bacilos grampositivos no esporulados	

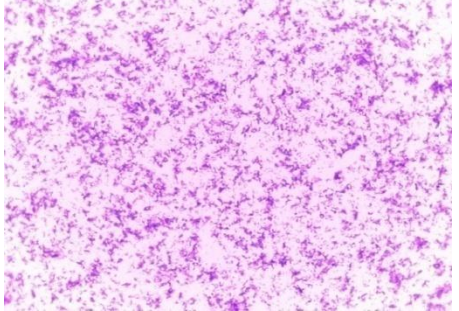
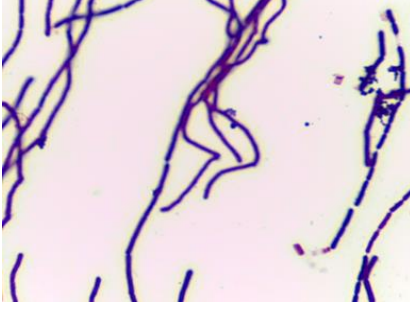


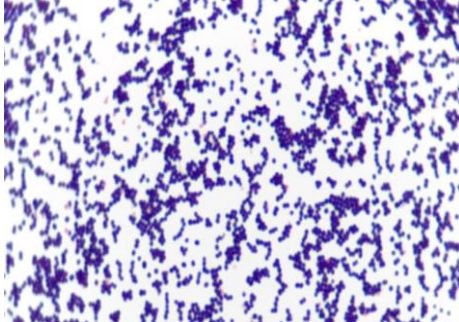
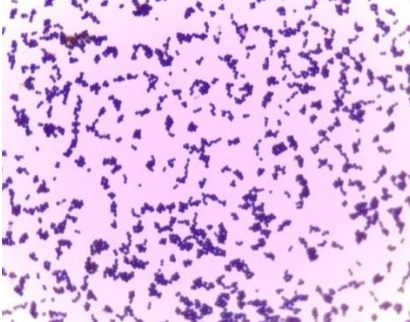
1VB6 M3	Bacilos grampositivos no esporulados		1VB7M1	Bacilos grampositivos no esporulados, cadenas cortas.	
1VB7M2	Bacilos grampositivos esporulados en cadena (estreptobacilos)		1VB7M3	Cocos grampositivos en racimo	
1VB7M4	Bacilos gramnegativos				
SILLA					
Código	Descripción	Micrografía	Código	Descripción	Micrografía

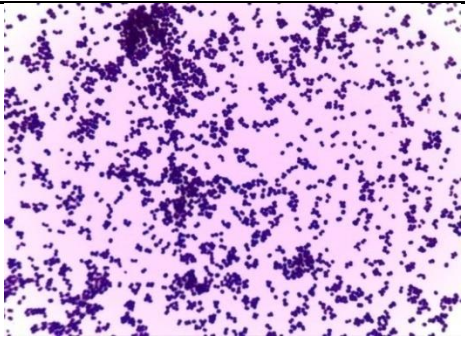
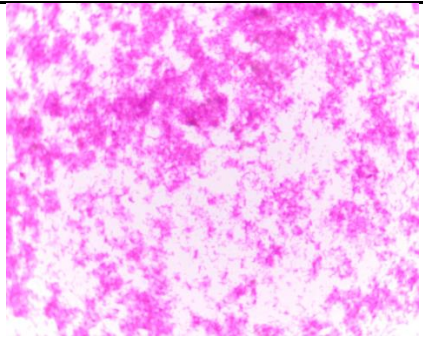
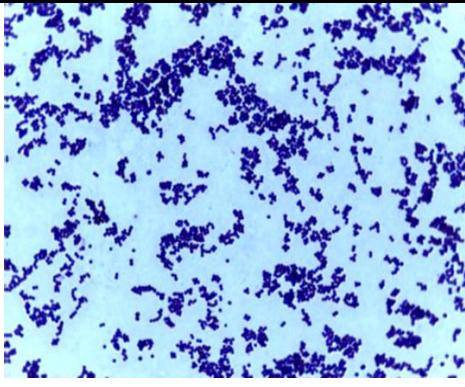
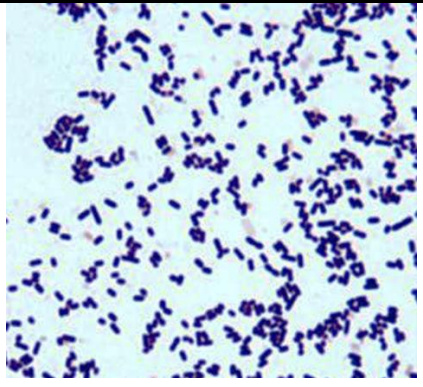
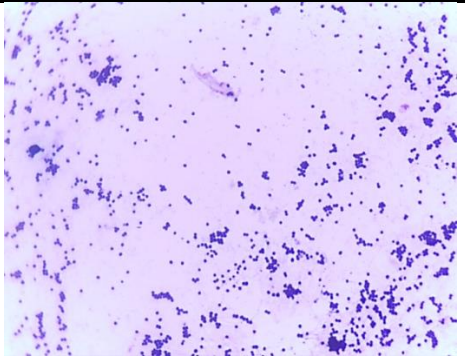
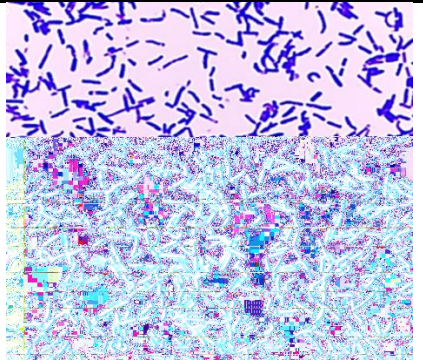
1SB1 M1	Cocos grampositivos en racimo (estafilococos)		1SB1 M2	Cocos grampositivos diplococos	
1SB1 M3	Bacilos gramnegativos		1SB2 M1	Cocos grampositivos en racimo (estafilococos)	
1SB2 M2	Bacilos grampositivos no esporulados		1SB2 M3	Bacilos grampositivos esporulados	

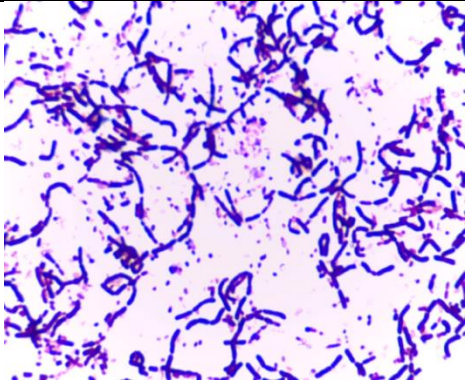
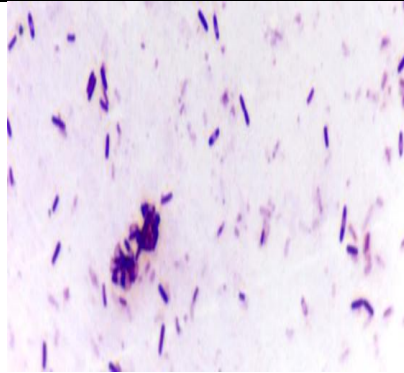
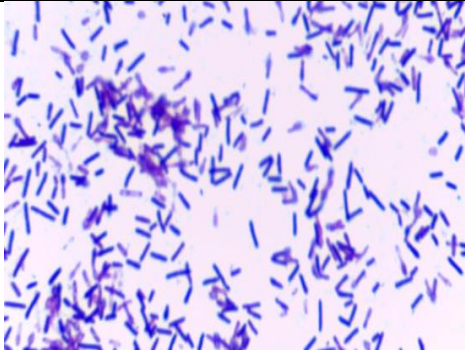
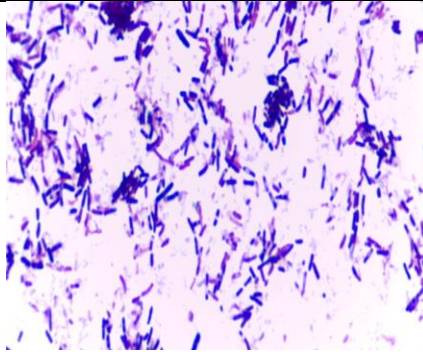
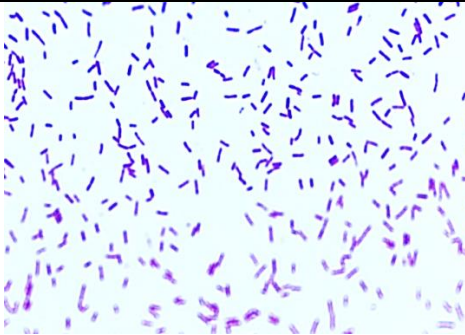
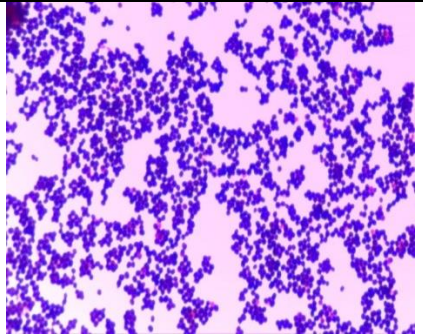
1SB2 M4	Cocos grampositivos en racimo (estafilococos)		1SB2 M5	Cocos grampositivos diplococos	
1SB2 M6	Bacilos grampositivos no Esporulados		1SB3 M1	Bacilos grampositivos Esporulados	
1SB3 M2	Bacilos grampositivos no esporulados		1SB3 M3	Bacilos gramnegativos	

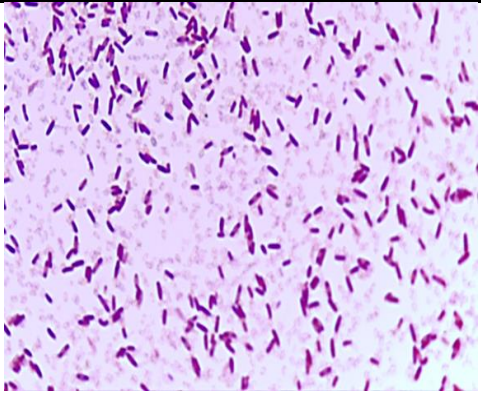
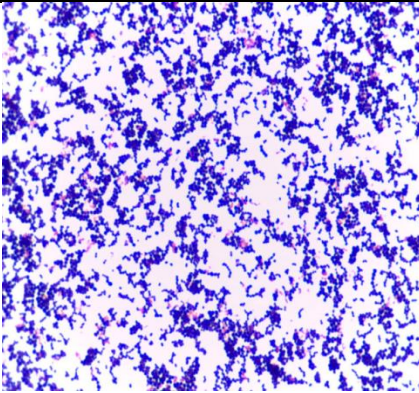

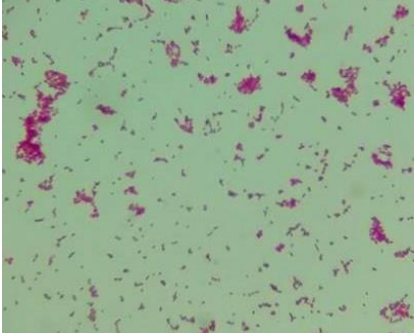
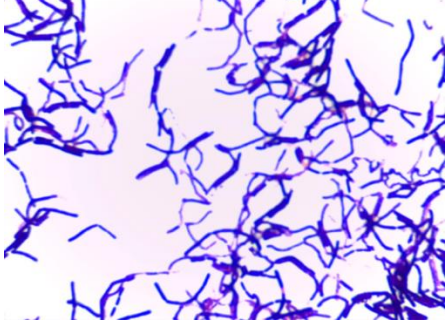
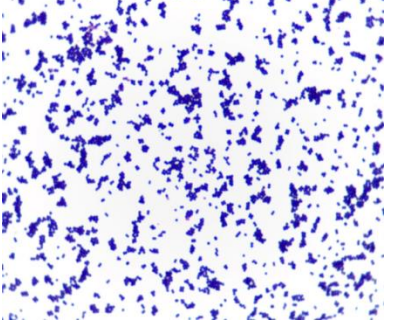
1SB3 M4	Cocos grampositivos en tétradas		1SB3 M5	Cocos grampositivos en racimo (estafilococos)	
1SB6 M6	Cocos grampositivos (estafilocos)		1SB4 M1	Bacilos grampositivos no esporulados	
1SB4 M2	Bacilos grampositivos no Esporulados		1SB4 M3	Bacilos grampositivos esporulados	

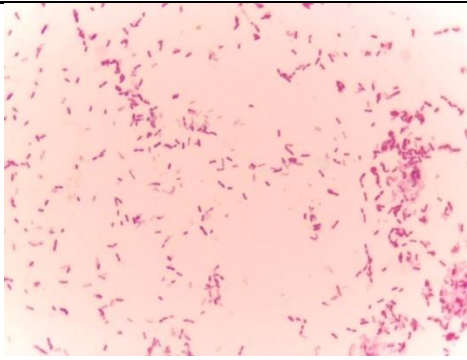
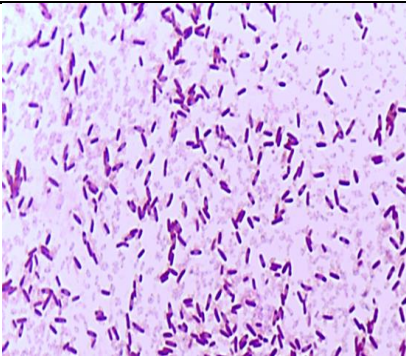
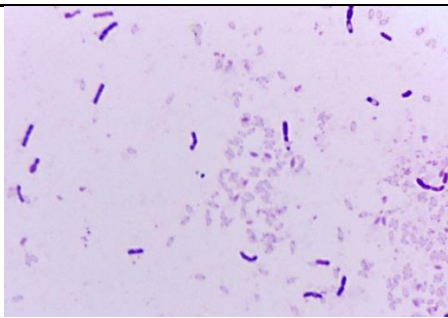

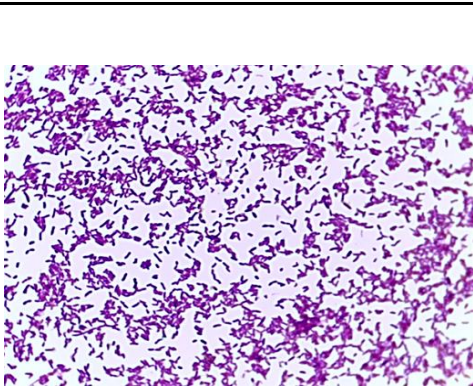
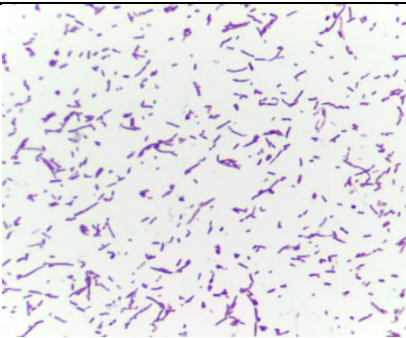
1SB4 M4	Bacilos grampositivos esporulados		1SB4 M5	Bacilos grampositivos Esporulados	
1SB4 M6	Bacilos grampositivos no esporulados		1SB5 M1	Cocos grampositivos en racimo (estafilococos)	
1SB5 M2	Bacilos grampositivos Esporulados		1SB5 M3	Bacilos grampositivos no esporulados	

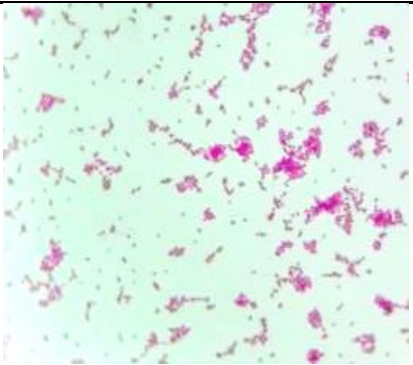



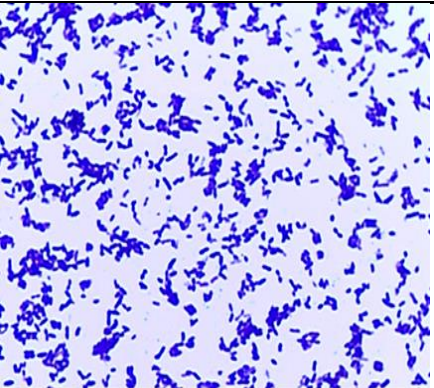
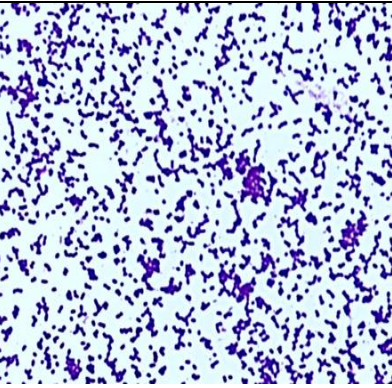
1SB5 M4	Bacilos gramnegativos		1SB6 M1	Bacilos grampositivos no Esporulados en cadena (estreptobacilos)	
1SB6 M2	Bacilos grampositivos no Esporulados		1SB6 M3	Bacilos grampositivos no Esporulados	
1SB6 M4	Cocos grampositivos en racimo (estafilococo)		1SB6 M5	Cocos grampositivos en racimos (estafilococos)	


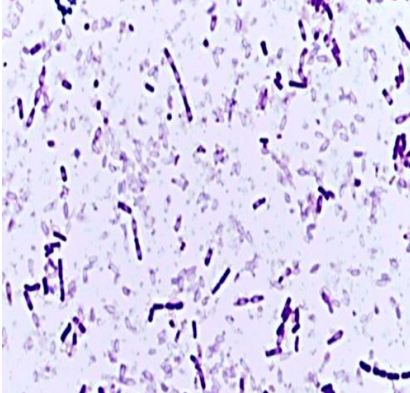
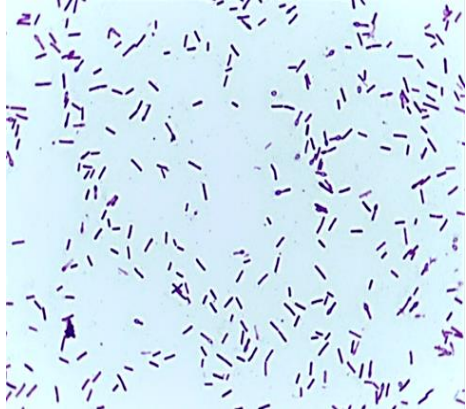
1SB6 M6	Cocos grampositivos en racimos (estafilococos)		1SB7M1	Bacilos gramnegativos	
1SB7M2	Cocos grampositivos en racimo.		1SB7M3	Bacilos grampositivos no esporulados.	
1SB7M4	Cocos grampositivos muy pequeños.		1SB7M5	Bacilos grampositivos no esporulados.	
PASAMANOS					

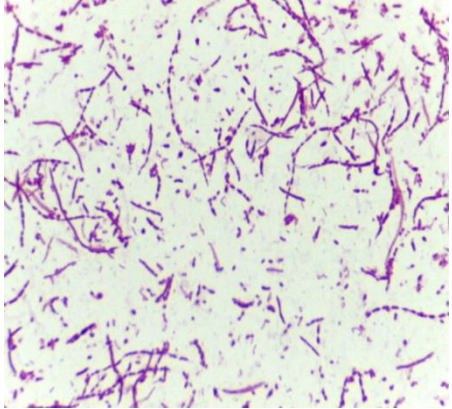
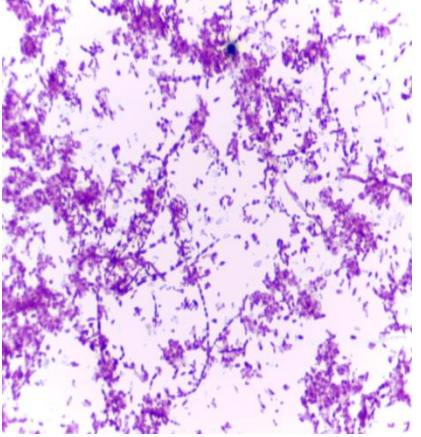
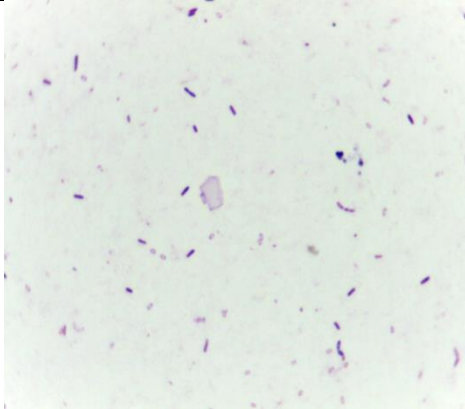

Código	Descripción	Micrografía	Código	Descripción	Micrografía
1PB1 M1	Bacilos grampositivos no esporulados.		1PB1 M2	Bacilos grampositivos Esporulados	
1PB1 M3	Bacilos grampositivos no Esporulados		1PB2 M1	Bacilos grampositivos no Esporulados	
1PB2 M2	Bacilos grampositivos no esporulados		1PB2 M3	Cocos grampositivos en racimos (estafilococos)	



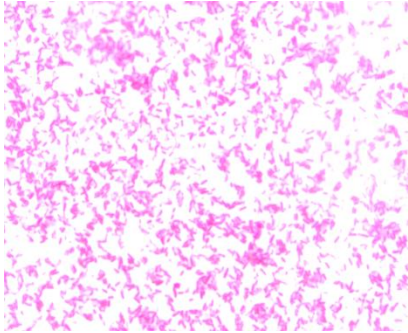
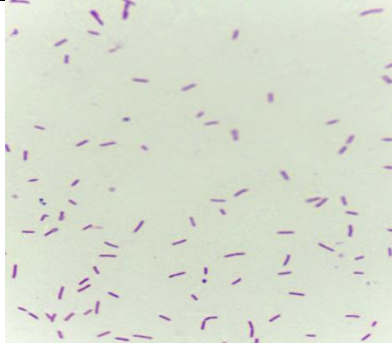
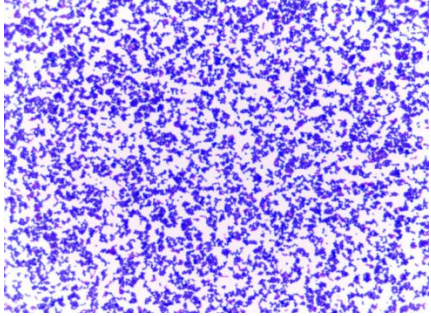
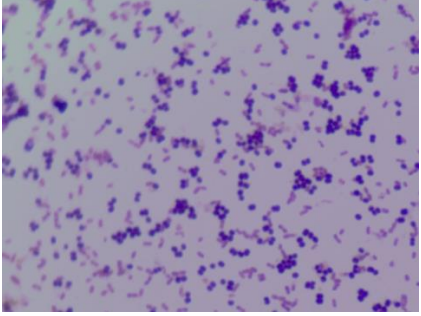
1PB3 M1	Bacilos grampositivos Esporulados.		1PB3 M2	Cocos grampositivos en racimos (estafilococos)	
1PB3 M3	Bacilos grampositivos Esporulados.		1PB3 M4	Bacilos gramnegativos	
1PB3 M5	Bacilos grampositivos no Esporulados		1PB4 M1	Cocos grampositivos en racimo (estafilococos)	

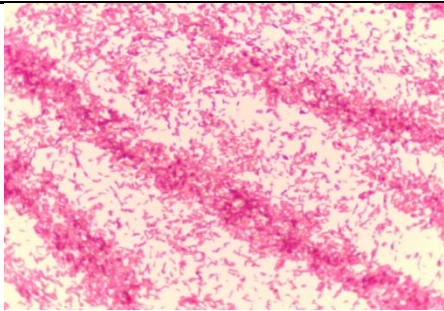
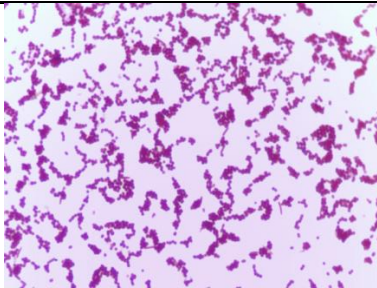
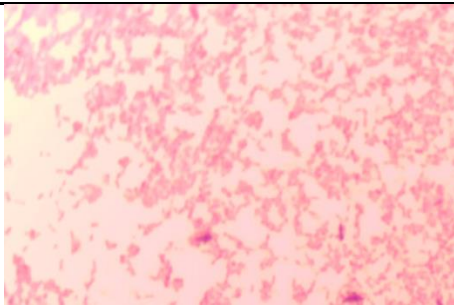
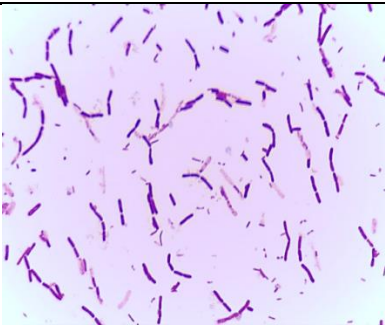
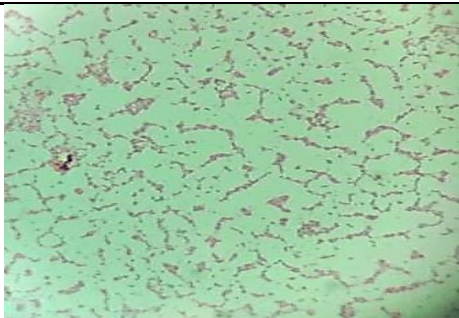
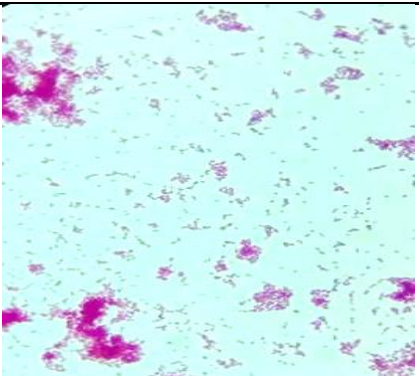
1PB4 M2	Bacilos gramnegativos		1PB4 M3	Bacilos grampositivos Esporulados	
1PB4 M4	Bacilos grampositivos Esporulados		1PB5 M1	Bacilos grampositivos Esporulados	
1PB5 M2	Bacilos grampositivos no esporulados.		2PB5 M3	Bacilos grampositivos no Esporulados	

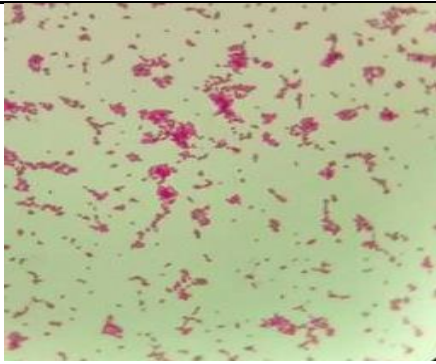
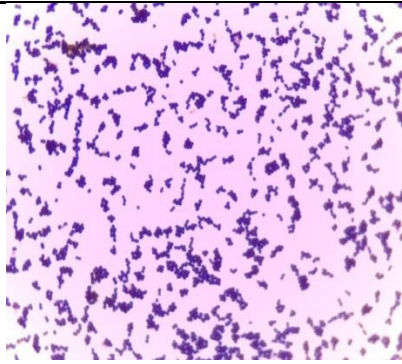
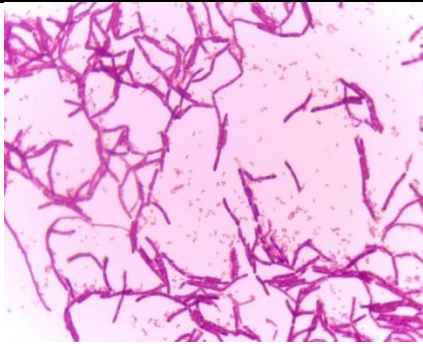
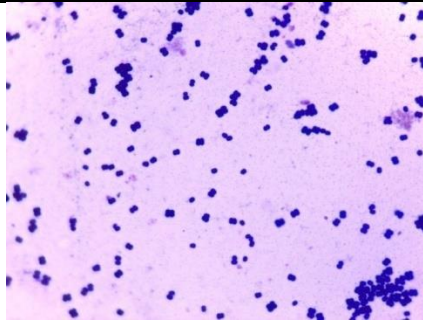

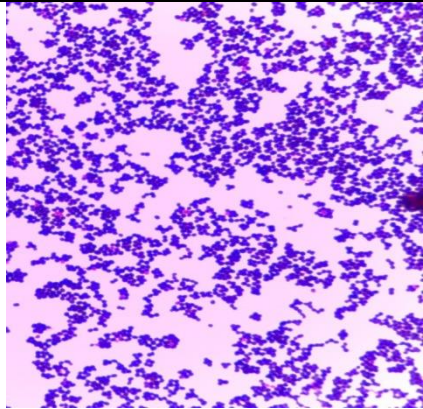
1PB5 M4	Bacilos gramnegativos		2PB6 M1	Bacilos grampositivos no Esporulados	
1PB6 M2	Bacilos grampositivos no Esporulados		2PB7M1	Bacilos grampositivos esporulados	
2PB7M2	Bacilos grampositivos no esporulados.		2PB7M3	Cocos grampositivos en racimo.	

2PB7M4	Bacilos grampositivos no esporulados		2PB7M5	Bacilos grampositivos esporulados.	
2PB7M6	Bacilos grampositivos no esporulados.				
TIMBRE					
Código	Descripción	Micrografía	Código	Descripción	Micrografía

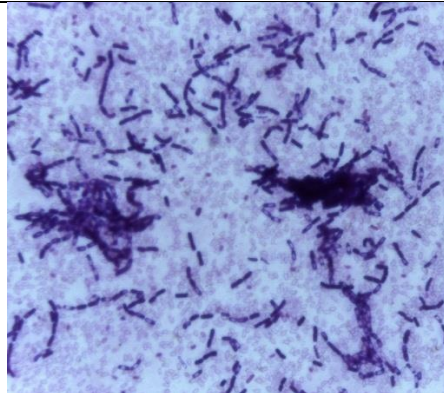
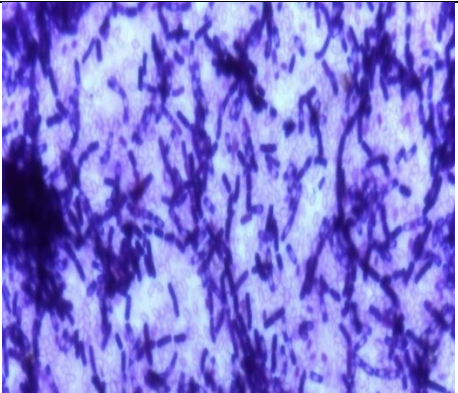
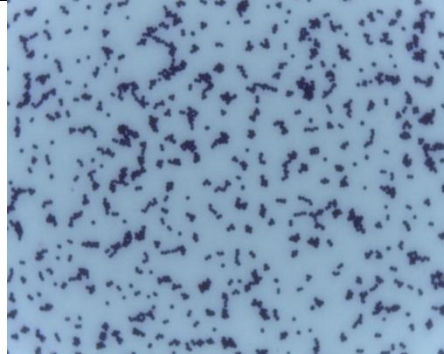
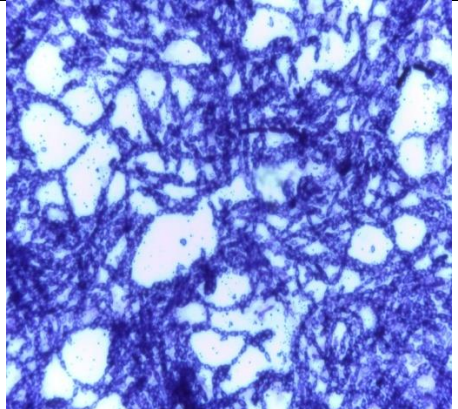
1TB1 M1	Bacilos grampositivos no Esporulados		1TB1 M2	Bacilos grampositivos no Esporulados	
1TB2 M1	Bacilos grampositivos no esporulados		1TB2 M2	Bacilos grampositivos no esporulados	

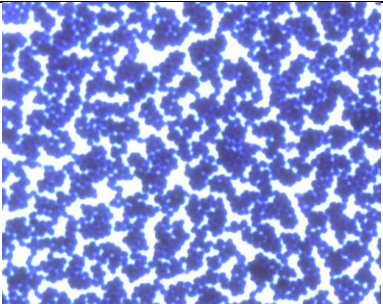
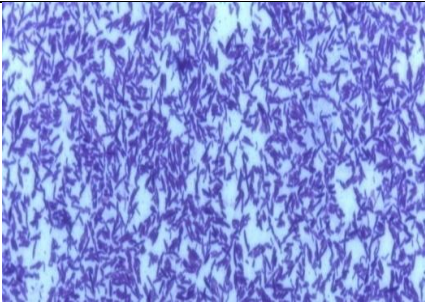
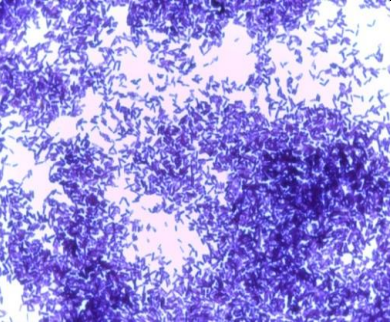
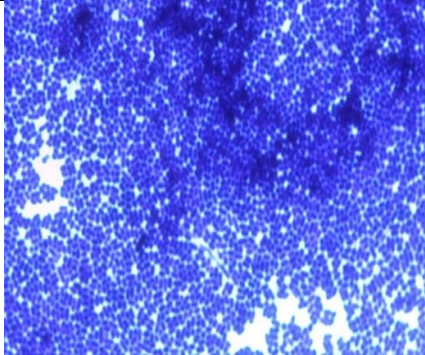
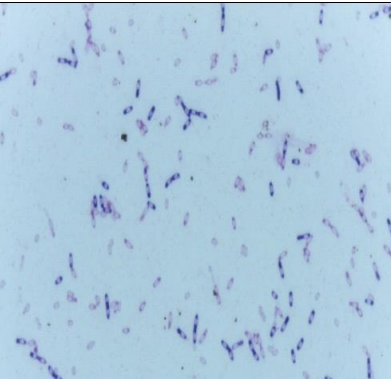
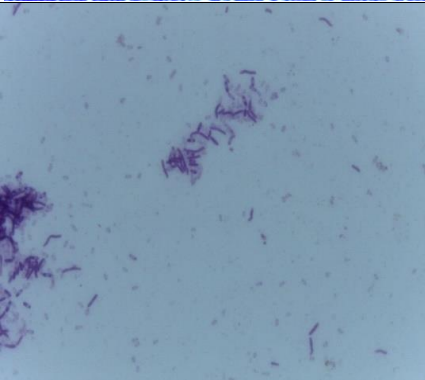
1TB2 M3	Bacilos grampositivos esporulados		1TB2 M4	Bacilos grampositivos no esporulados	
1TB3 M1	Bacilos gramnegativos		1TB3 M2	Bacilos grampositivos no esporulados	
1TB3 M3	Cocos grampositivos en racimo (estafilococos)		1TB4 M1	Cocos grampositivos en cadena (estafilococos)	

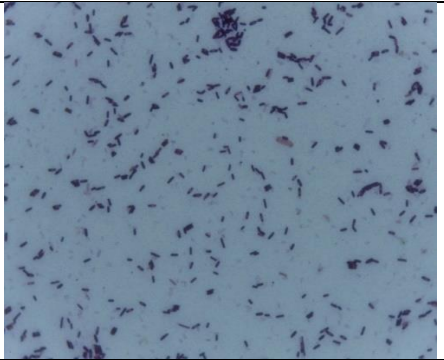
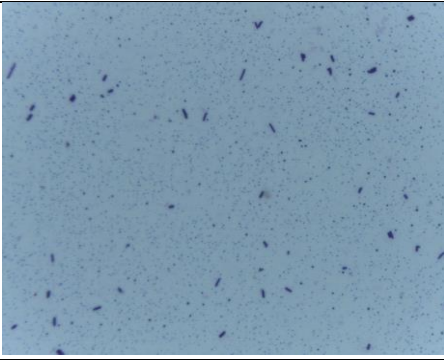

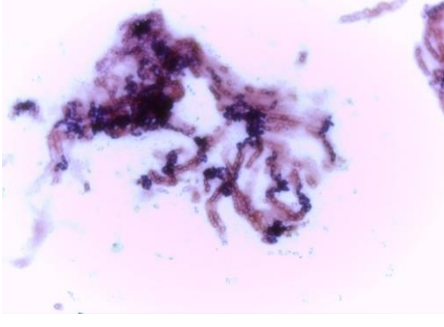
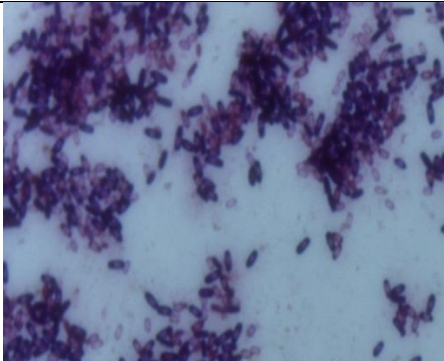
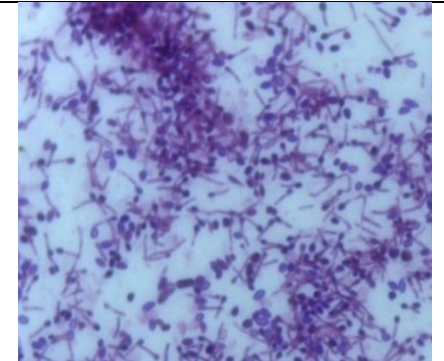
1TB4 M2	Bacilos gramnegativos		1TB4 M3	Cocos grampositivos en racimo (estafilococos)	
1TB5 M1	Bacilos gramnegativos		1TB5 M2	Bacilos grampositivos no Esporulados	
1TB6 M1	Bacilos gramnegativos		1TB6M2	Bacilos gramnegativos	

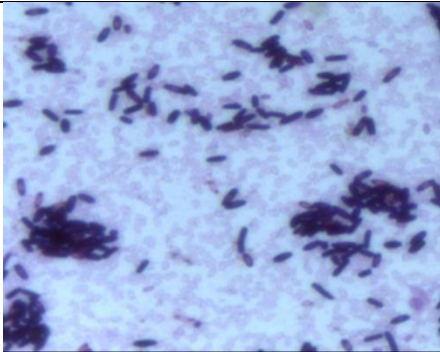
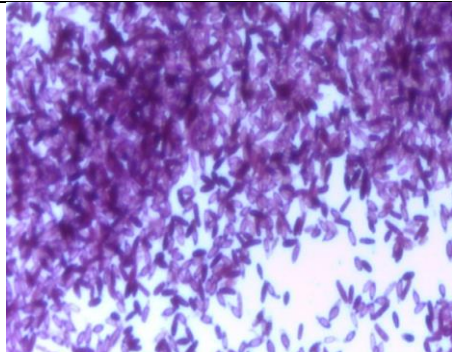
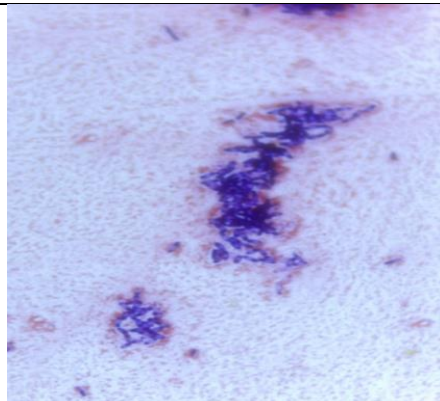
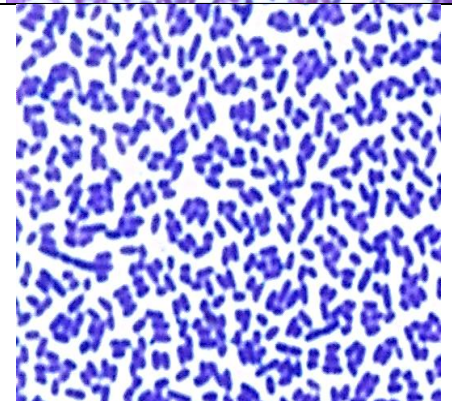
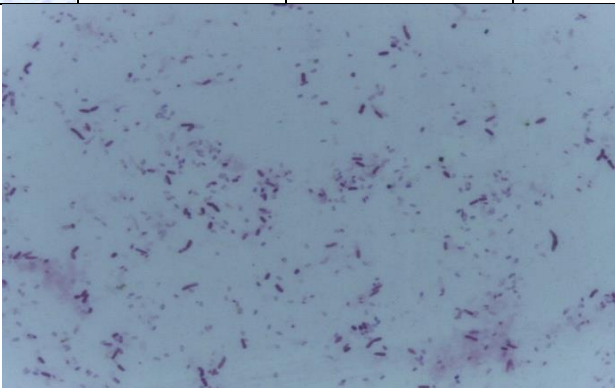
1TB7M1	Bacilos gramnegativos	 Micrograph showing Gram-negative bacilli, which appear pink/red against a light green background.	1TB7M2	Cocos grampositivos en racimo	 Micrograph showing Gram-positive cocci in clusters, appearing purple against a light pink background.
1TB7M4	Bacilos grampositivos no esporulados	 Micrograph showing Gram-positive non-spore-forming bacilli, appearing pink against a light pink background.	1TB7M5	Cocos grampositivos en racimo.	 Micrograph showing Gram-positive cocci in clusters, appearing dark blue/purple against a light pink background.
1TB7M6	Bacilos grampositivos esporulados	 Micrograph showing Gram-positive spore-forming bacilli, appearing blue against a light blue background.	1TB7M7	Cocos grampositivos en racimo.	 Micrograph showing Gram-positive cocci in clusters, appearing dark purple against a light pink background.

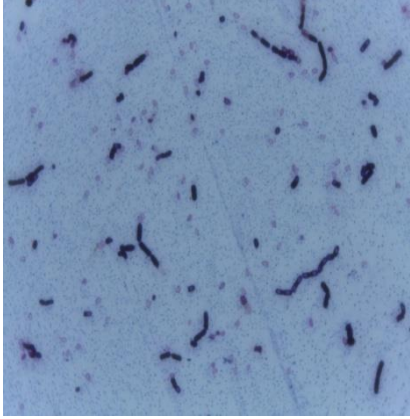
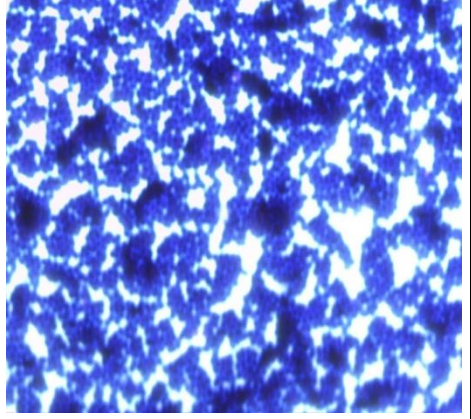
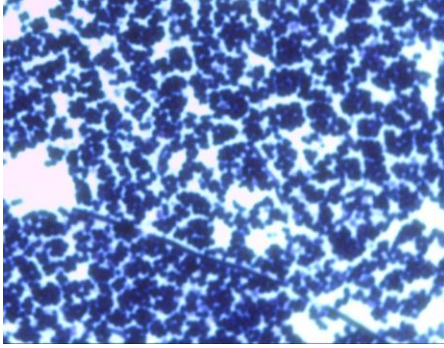
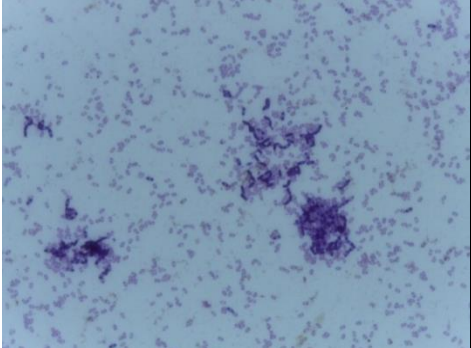
Cuadro 5. Descripción de la morfología celular de cada morfotipo aislado en primer muestreo

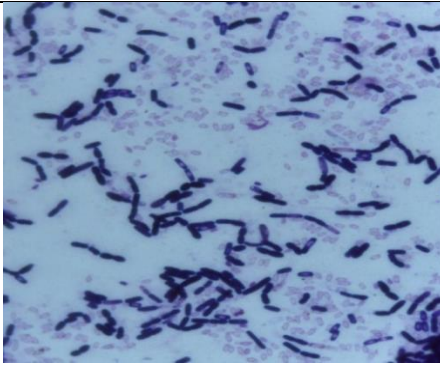
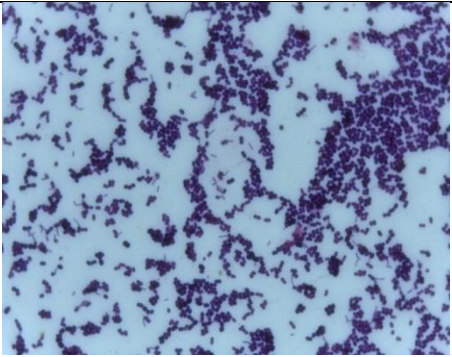
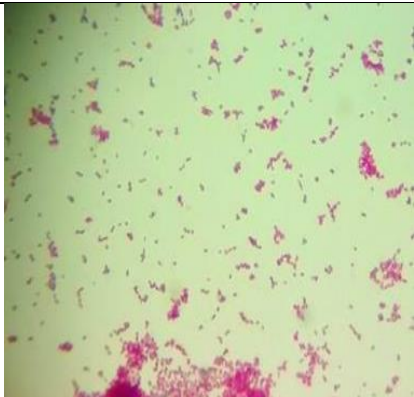
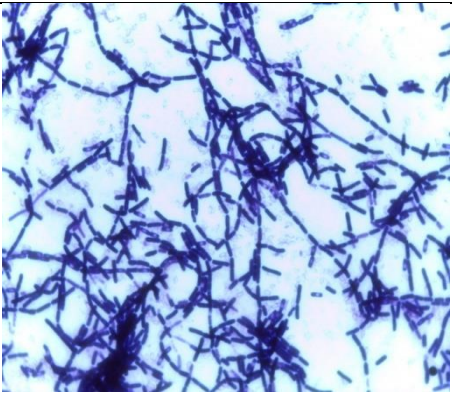

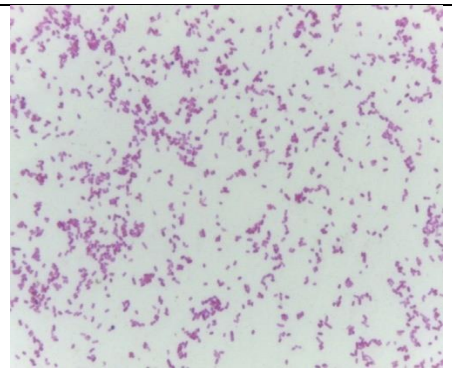
Ventana					
Código	Descripción	Micrografía	Código	Descripción	Micrografía
2VB1 M2	Bacilos grampositivos esporulados en cadena (estreptobacilos)		2VB1 M3	Bacilos grampositivos no esporulados, la mayoría en cadenas cortas.	
2VB1 M4	Cocos grampositivos en cadena		2VB1 M5	Bacilos grampositivos esporulados en cadena	

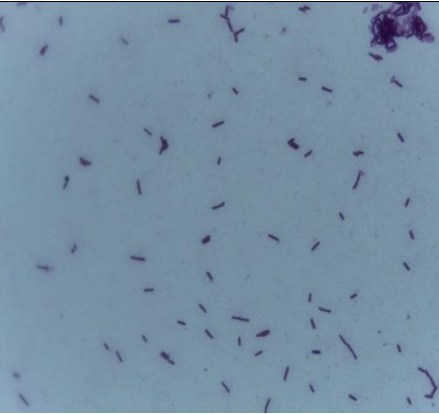
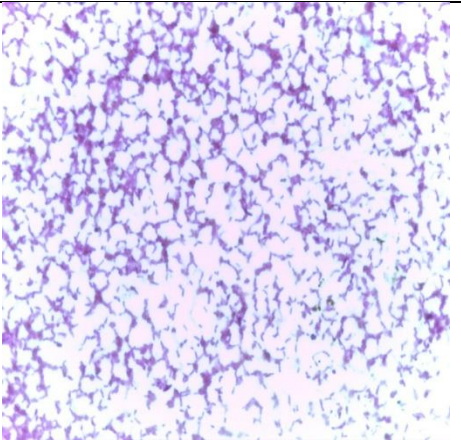
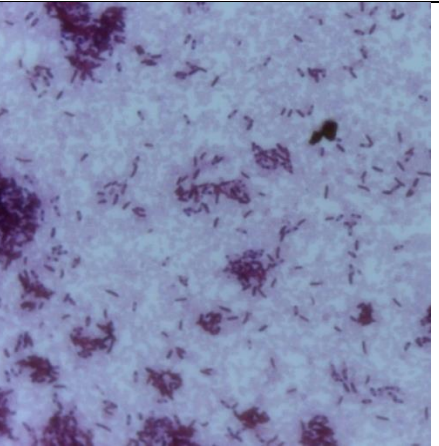
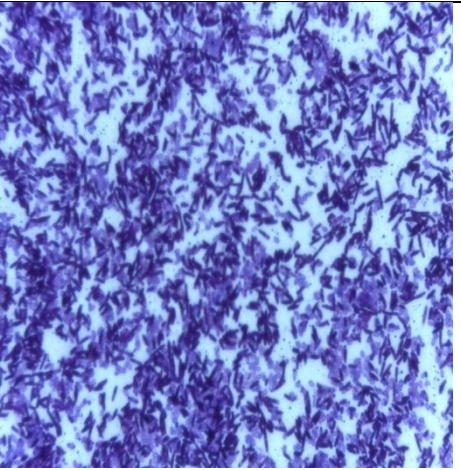
2VB2 M1	Cocos grampositivos en racimo		2VB2 M2	Bacilos grampositivos no esporulados	
2VB2 M4	Bacilos grampositivos esporulados		2VB2 M5	Cocos grampositivos	
2VB3M1	Bacilos grampositivos esporulados		2VB3M2	Bacilos grampositivos esporulados	

2VB3M3	Bacilos grampositivos esporulados		2VB3 M4	Bacilos grampositivos no esporulados	
2VB3 M5	Cocobacilos grampositivos		2VB3M6	Bacilos grampositivos esporulados	
2VB3 M7	Bacilos grampositivos esporulados		2VB4M2	Cocos grampositivos	

2VB4 M4	Bacilos grampositivos esporulados		2VB4 M5	Bacilos grampositivos esporulados	
2VB5 M3	Bacilos grampositivos esporulados		2VB5 M6	Bacilos grampositivos no esporulados	
2VB7 M5	Bacilos Gram positivos no esporulados				
Timbre					

Código	Descripción	Micrografía	Código	Descripción	Micrografía
2TB2 M1	Bacilos grampositivos no esporulados.		2TB4 M1	Cocos grampositivos en racimo.	
2TB4 M3	Cocos grampositivos en racimo.		2TB4 M5	Bacilos grampositivos esporulados.	
Silla					
Código	Descripción	Micrografía	Código	Descripción	Micrografía

2SB1 M2	Bacilos grampositivos esporulados.		2SB1 M3	Cocos grampositivos en racimo.	
2SB1 M4	Bacilos gramnegativos		2SB2 M1	Bacilos grampositivos esporulados.	
2SB3 M2	Bacilos grampositivos esporulados.		2SB4 M5	Bacilos gramnegativos.	

<p>2SB7 M4</p>	<p>Bacilos grampositivos no esporulados.</p>		<p>2SB7 M5</p>	<p>Bacilos grampositivos no esporulados.</p>	
<p>Pasamanos</p>					
<p>Código</p>	<p>Descripción</p>	<p>Micrografía</p>	<p>Código</p>	<p>Descripción</p>	<p>Micrografía</p>
<p>2PB1 M1</p>	<p>Bacilos grampositivos esporulados.</p>		<p>2PB2 M1</p>	<p>Bacilos grampositivos no esporulados.</p>	

Anexo F Tablas de identificación muestreo preliminar, primer y segundo muestreo

Tabla 23. *Identificación de Cocos grampositivos muestreo preliminar.*

Código	Morfotipo	Muestra	Catalasa	Oxidasa	Bacitracina	Aerobio	Anaerobio			Coagulasa	Manitol	Agar sangre	Novobiocina	Microorganismo Identificado.
							Facultativo	Estricto	aerotolerante					
VB1	M2	2	+	-	R		X		+	+	Beta	R	<i>Staphylococcus aureus</i>	
VB1	M5	5	+	-	R		X		-	-	Alfa	S	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
VB1	M8	8	+	-	R			X	-	-	Gama	R	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	
VB1	M9	9	+	+	S		X		+	+	Gama		<i>Micrococcus</i> sp.	
VB3	M3	16	+	-	R		X		+	+	Gama	R	<i>Staphylococcus aureus</i>	
TB1	M1	19	+	+	S		X		+	+	Gama		<i>Micrococcus</i> sp.	
TB2	M1	22	+	+	S	X			+	+	Gama		<i>Micrococcus</i> sp.	
TB2	M2	23	+	-	R		X		+	+	Gama	R	<i>Staphylococcus aureus</i>	
TB2	M3	24	+	-	R		X		-	-	Alfa	S	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
SB1	M3	31	+	-	R		X		+	+	Gama	R	<i>Staphylococcus aureus</i>	
SB1	M5	33	+	-	R		X		-	-	Alfa	S	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
SB1	M8	36	+	+	S			X	+	+	Gama		<i>Micrococcus</i> sp.	
SB3	M3	46	+	-	R			X	+	+	Gama	R	<i>Staphylococcus aureus</i>	
SB3	M5	48	+	+	S			X	-	-	Gama		<i>Micrococcus</i> sp.	
SB3	M6	49	+	-	R			X	-	-	Gama	R	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	
PB2	M2	59	+	+	S			X	+	+	Gama		<i>Micrococcus</i> sp.	
PB2	M3	60	+	-	R		X		+	+	Gama	R	<i>Staphylococcus aureus</i>	

+ Reacción positiva, - No hay reacción, X Bacteria presenta este comportamiento

Tabla 24. Identificación de bacilos gramnegativos muestreo preliminar.

Código	Morfotipo	Catalasa	Anaerobio			Oxidasa	TSI	SIM			Manitol	Urea	MIO			LIA		H2S	Resultado	Agar MacConkey	Descripción	Microorganismo seleccionado
			Facultativa	Estricto	aerotolerante			Citrato	H ₂ S	Motilidad			Indol	Gas	Indol	Ornitina	movilidad					
V B 1	M 7	+	X	-	A	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>E. coli</i>		
V B 1 1 0	M 1	+	X	+	A	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>Aeromonas</i> sp.		
V B 3 4	M 4	+	X	-	A	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>E. coli</i>		
T B 1 2 1	M 2	+	X	+	K	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	Colonias incoloras, transparentes, hay viraje del medio	<i>Pseudomonas</i> sp.		

Código	Morfo tipo	Catalasa	Anaerobio		SIM					MIO			LIA			Resultado	Agar MacConkey	Microorganismo Identificado			
			Facultativa	Estricto aerotolerante	Oxidasa	TSI	Citrato	H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Urea	Gas	Indol	Ornitina		movilidad		descarboxilación	desaminación	H ₂ S
T B 2	M 4	+	X	-	A / A	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>E. coli</i>
T B 3	M 2	+	X	-	A / A	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>Klebsiella</i> sp.	
S B 1	M 9	+	X	+	K / K	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	Colonias incoloras, transparentes, hay viraje del medio	<i>Pseudomonas</i> sp.	
S B 1	M 1	+	X	+	A / A	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	Colonia color blanca y viraje del medio a amarillo	<i>Aeromonas</i> sp.	
S B 1	M 1	+	X	-	A / A	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>Klebsiella</i> sp.	

Código	Morfo tipo	Catalasa	Anaerobio			SIM					MIO			LIA		Agar MacConkey		Microorga nismo identificad o			
			Aerobio	Facultativ o	Estricto aerotolera	Oxidasa	TSI	Citrato	H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Urea	Gas	Indol	Ornitina	movilidad		descarbox	desamina	H ₂ S
S B 3	M 4	+	X			+	K / K	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	Colonias incoloras, transparentes, hay viraje del medio	<i>Pseudomonas</i> sp.
S B 3	M 8	+	X			+	K / K	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	Colonias incoloras, transparentes, hay viraje del medio	<i>Pseudomonas</i> sp.
P B 2	M 1	+		X		-	A / A	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>E. coli</i>
P B 2	M 4	+	X			-	A / A	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>Klebsiella</i> sp
P B 3	M 2	+		X		+	A / A	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>Aeromonas</i> sp.

Código	Morfo tipo	Catalasa	Aerobio	Anaerobi o		Oxidasa	TSI	SIM			Manitol	Urea	MIO			LIA		Res ultado	Agar MacConkey	Descripción.	Microorga nismo identificad o
				Facultativ	Estricto			aerotolera	Citrato	H ₂ S			Indol	Gas	Indol	Ornitina	movilidad				
P B 3	M 3	+		X	-	A / A	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	Colonias color blanco viraje del medio a amarillo	<i>Enterobacter</i> sp.	

+ Reacción positiva

- No hay reacción

X Bacteria presenta este comportamiento.

Tabla 25. *identificación de bacilos grampositivos no esporulados.*

Código	Morfo tipo	Catalasa	Anaerobio			SIM											Motilidad 25°C	Reducción de nitratos	Microorganismo identificado
			Aerobio	Facultativa	Estricto	Aerotolerante	TSI	Gas	oxidasa	Citrato	H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Urea	LIA			
VB1	M3	+	X			K/A			-	-	-	-	-	+	-		Beta	-	Corynebacterium sp.
VB2	M2	+	X			K/K			+	-	+	-	-	-	-	-	Gama	+	Listeria sp.
VB2	M3	-	X			K/A	-	-	+	-	-	-	+	-	-		Alfa		Lactobacillus sp.
VB3	M2	+			X	K/A			-	-	-	-	+	-	-		Beta	-	Corynebacterium sp.
TB1	M3	-	X			A/A	-	-	-	-	-	-	+	-	-		Alfa		Lactobacillus sp.
TB2	M5	+	X			K/K			-	-	-	-	-	-	-		Gama	+	Listeria sp.
SB1	M2	+	X			A/A			-	-	-	-	+	-	-		Beta	+	Listeria sp.

Código	Morfotipo	Catalasa	Anaerobio			TSI	Gas	Oxidasa	Citrato	SIM			Manitol	Urea	LIA	Agar sangre	Motilidad 25°C	Reducción de NO3	Microorganismo identificado
			Facultativa	Estricto	Aerotolerante					H2S	Motilidad	Indol							
SB1	M4	+	X			K/A			-	-	-	-	+	-	Beta	-	-	<i>Corynebacterium</i> sp.	
SB1	M10	+	X			A/A	+	-	-	-	-	-	+	-	Beta	-	-	<i>Lactobacillus</i> spp	
SB2	M2	+	X			A/A			-	-	-	-	-	-	Beta	-	-	<i>Corynebacterium</i> sp.	
SB2	M3	+	X			A/A			-	-	-	-	+	-	Beta	+	-	<i>Listeria</i> spp.	
SB3	M7	+	X			A/A			-	-	+	-	-	-	Gama	-	+	<i>Corynebacterium</i> sp.	
SB3	M10	+	X			K/K			-	-	+	-	-	+	Gama	+	-	<i>Listeria</i> sp.	
SB3	M11	+	X			K/K			-	-	+	-	-	+	Gama	+	-	<i>Listeria</i> sp.	
PB1	M1	+	X			K/K			-	-	+	-	-	-	Beta	+	-	<i>Listeria</i> sp.	
PB1	M2	+	X			K/A			+	-	+	-	+	+	Gama	-	+	<i>Corynebacterium</i> sp.	

+ Reacción positiva, - No hay reacción, X Bacteria presenta este comportamiento.

Tabla 26. Identificación de bacilos esporulados muestreo preliminar

Código	Morfoloipo	Muestra	Catalasa	Aerobio	Anaerobio			TSI	Citrato	SIM			Urea	Agar sangre	Microorganismo encontrado
					Facultativa	Estricto	aerotolerante			H ₂ S	Motilidad	Indol			
VB1	M1	1	-		X		A/A	-	-	-	-	+	-	Alfa	<i>Clostridium</i> sp.
VB1	M4	4	+		X		A/A	+	-	+	-	+	-	Gama	<i>Bacillus subtilis</i>
VB1	M6	6	+		X		K/A	+	-	+	-	-	-	Beta	<i>Bacillus cereus</i>
VB2	M1	11	+		X		A/A	+	-	+	-	-	-	Beta	<i>Bacillus cereus</i>
VB3	M1	14	+		X		A/A	+	-	+	-	+	-	Gama	<i>Bacillus subtilis</i>
VB3	M5	18	+		X		A/A	+	-	+	-	-	-	Beta	<i>Bacillus cereus</i>
TB3	M1	27	+		X		A/A	+	-	+	-	+	-	Gama	<i>Bacillus subtilis</i>
SB1	M1	29	+		X		A/A	-	-	-	-	+	-	Beta	<i>Clostridium</i> sp.
SB1	M6	34	+		X		K/A	+	-	+	-	-	-	Beta	<i>Bacillus cereus</i>
SB1	M7	35	-		X		A/A	-	-	-	-	+	-	Alfa	<i>Clostridium</i> sp.
SB2	M1	41	-		X		A/A	-	-	-	-	+	-	Alfa	<i>Clostridium</i> sp.
SB3	M1	44	-		X		A/A	-	-	-	-	+	-	Alfa	<i>Clostridium</i> sp.
SB3	M2	45	+		X		K/A	+	-	+	-	-	-	Beta	<i>Bacillus cereus</i>
SB3	M9	52	+		X		A/A	+	-	+	-	+	-	Gama	<i>Bacillus subtilis</i>
PB1	M3	57	+		X		K/A	+	-	+	-	-	-	Beta	<i>Bacillus cereus</i>
PB3	M1	62	+		X		A/A	+	-	+	-	+	-	Gama	<i>Bacillus subtilis</i>

Tabla 27. Identificación de cocos grampositivos primer muestreo

Código	Morfotipo	Catalasa	Manitol	Oxidasa	Bacitracina	Aerobio	Anaerobio			Coagulasa	Agar sangre	Novobiocina	Microorganismo identificado
							Facultativo	Estricto	aerotolerante				
1VB1	M2	+	-	+	S			X	+	Gama		<i>Micrococcus</i>	
1VB4	M2	+	-	+	S			X	+	Alfa		<i>Micrococcus</i>	
1VB4	M1 0	+	+	-	R	X			+	Alfa	R	<i>S. aureus</i>	
1VB5	M2	+	-	-	R	X			+	Alfa	R	<i>s. saprophyticus</i>	
1VB5	M3	+	+	-	R		X		+	Alfa	R	<i>S. aureus</i>	
1VB5	M6	+	-	-	R	X		X	-	Gama	S	<i>s. epidermidis</i>	
1VB5	M7	+	-	+	S			X	+	Alfa		<i>Micrococcus</i>	
1VB7	M3	+	-	-	R	X			-	Alfa	S	<i>s. epidermidis</i>	
1SB1	M1	+	-	-	R			X	+	Gama	R	<i>s. saprophyticus</i>	
1SB1	M2	+	-	+	S			X	+	Gama		<i>Micrococcus</i>	
1SB2	M1	+	-	-	R	X			-	Alfa	S	<i>s. epidermidis</i>	
1SB2	M4	+	-	-	R			X	+	Gama	R	<i>s. saprophyticus</i>	
1SB2	M5	+	-	+	S			X	-	Gama		<i>Micrococcus</i>	
1SB3	M4	+	-	+	S		X		+	Alfa		<i>Micrococcus</i>	
1SB3	M5	+	-	-	R	X			+	Alfa	R	<i>s. saprophyticus</i>	
1SB3	M6	+	-	-	R		X		+	Gama	S	<i>s. epidermidis</i>	
1SB5	M1	+	-	-	R	X			+	Alfa	R	<i>s. saprophyticus</i>	
1SB6	M4	+	+	-	R			X	+	Gama	R	<i>S. aureus</i>	
1SB6	M5	+	-	+	S			X	-	Gama		<i>Micrococcus</i>	
1SB6	M6	+	-	-	R	X			+	Alfa	R	<i>s. saprophyticus</i>	
1SB7	M2	+	+	-				X	+	Gama	R	<i>S. aureus</i>	

Anaerobio

Código	Morfotipo	Catalasa	Manitol	Oxidasa	Bacitración	Aerobio	Facultativo	Estricto	aerotolerante	Coagulasa	Agar sangre	Novobiocina	Microorganismo identificado
1SB7	M4	+	-	+	S				X	-	Gama		<i>Micrococcus</i>
1PB2	M3	+	+	-					X	+	Gama	R	<i>S. aureus</i>
1PB3	M2	+	-	+	S		X			-	Gama		<i>Micrococcus</i>
1PB4	M1	+	+	-	R				X	+	Gama	R	<i>S. aureus</i>
1PB7	M3	+	-	-	R		X			-	Alfa	S	<i>s. epidermidis</i>
1TB3	M3	+	-	-	R				X	-	Alfa	S	<i>s. epidermidis</i>
1TB4	M1	+	+	-	R				X	+	Gama	R	<i>S. aureus</i>
1TB4	M3	+	-	-	R				X	-	Alfa	S	<i>s. epidermidis</i>
1TB7	M2	+	-	-	R		X			+	Alfa	R	<i>s. saprophyticus</i>
1TB7	M5	+	-	+	S				X	-	Gama		<i>Micrococcus</i>
1TB7	M7	+	+	-	R				X	+	Gama	R	<i>S. aureus</i>

Tabla 28. Identificación de bacilos gramnegativos del primer muestreo

Código	Morfo tipo	Anaero bio		SIM					MIO			LIA		Agar MacConkey		Microorgan ismo identificado						
		Catalasa	Facultativa	Estricto	aerotolerante	Oxidasa	TSI	Citrato	H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Úrea	Gas	Indol		Ornitina	movilidad 25°C	descarboxilación	desaminación	H ₂ S	Resultado
1V B4	M 4	+	X			K / K	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	Colonias incoloras, transparentes, hay viraje del medio	<i>Pseudomona</i> <i>s</i> sp.
1V B4	M 9	+		X		A / A	-	-	+	+		-	+	+	-	+	-	-	+		Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>E. Coli</i>
1V B4	M 7	+	X			A / A	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	Crecimiento irregular	<i>Pasteurella</i> sp.
1V B7	M 4			X		A / A	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+		Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>E. Coli</i>
1S B1	M 3			X		K / K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+		Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>Shigella</i> sp

Código	Morfotipo	Anaerobio			SIM					MIO			LIA			Agar MacConkey	Microorganismo identificado					
		Catalasa	Facultativa	Estricto	aerotolerante	Oxidasa	TSI	Citrato	H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Urea	Gas	Indol			Ornitina	movilidad 25°C	descarboxilación	desaminación	H ₂ S
1S B2	M 5	+	X		+	K / K	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	Colonias incoloras, transparentes, hay viraje del medio	<i>Pseudomonas</i> sp.
1S B3	M 3	+		X	+	K / K	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	Colonias incoloras, transparentes, hay viraje del medio	<i>Pseudomonas</i> s.
1S B5	M 4	+	X		-	A / A	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>E. coli</i>
1S B7	M 1			X	-	A / A	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>Klebsiellasp</i>
1P B3	M 4	+	X		+	A / A	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>Aeromonas</i> sp.
1P B4	M 2	-	X		-	A / A	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>Enterobacte</i> <i>r</i>
1P B5	M 4	+	X		-	A / A	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>E.coli</i>

Código	Morfotipo	Anaero bio		SIM							MIO		LIA		Agar MacConkey			Microorgan ismo identificado				
		Catalasa	Facultativa	Estricto	aerotolerante	Oxidasa	TSI	Citrato	H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Urea	Gas	Indol	Ornitina	movilidad 25°C		descarboxilación	desaminación	H ₂ S	Resultado
1T B3	M 1	+	X	-	A / A	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>Klebsiellasp</i>
1T B4	M 2			X	A / A	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>Klebsiellasp</i>
1T B5	M 2	+	X		A / A	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	Crecimiento irregular	<i>Pasteurellas</i> p
1T B6	M 1			X	A / A	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>E.coli</i>
1T B6	M 2	+	X		A / A	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	Crecimiento irregular	<i>Pasteurellas</i> p.
1T B7	M 1			X	A / A	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	Colonias color rosado con consistencia cremosa	<i>E.coli</i>

Tabla 29 .Identificación de bacilos esporulados primer muestreo

Código	Morfofoto	Muestra	Catalasa	Aerobio	Anaerobio			TSI	Citrato	H ₂ S	SIM				Microorganismo identificado
					Facultativa	Estricto	aerotoleran ^{ta}				Motilidad	Indol	Manitol	Urea	
1VB1	M1	1	+		X			A/A	+	-	+	-	-	-	<i>Bacillus cereus</i>
1VB3	M3	7	+					K/K	-	-	-	-	-	-	<i>Bacillus coagulans</i>
1VB3	M5	9			X			K/A	-	-	-	-	-	-	<i>Clostridium</i> sp.
1VB4	M5	14	-		X			K/A	-	-	-	-	-	-	<i>Clostridium</i> sp.
1VB4	M6	15	+	X				K/K	+	-	+	-	+	-	<i>Bacillus subtilis</i>
1VB5	M1	20	+		X			A/A	+	-	+	-	-	-	<i>Bacillus cereus</i>
1VB6	M1	26	-		X			K/A	-	-	-	-	-	-	<i>Clostridium</i> sp.
1VB7	M2	28 B	-		X			A/A	-	-	-	-	+	-	<i>Clostridium</i> sp.
1SB2	M3	34	+		X			A/A	+	-	+	-	-	-	<i>Bacillus cereus</i>
1SB3	M1	38	+		X			A/A	+	-	+	-	-	-	<i>Bacillus cereus</i>
1SB4	M3	46			X			K/A	-	-	-	-	-	-	<i>Clostridium</i> sp.
1SB4	M4	47			X			A/A	+	-	+	-	-	-	<i>Bacillus cereus</i>
1SB4	M5	48	+	X				K/K	+	-	+	-	+	-	<i>Bacillus subtilis</i>
1SB5	M2	51	-		X			K/A	-	-	-	-	-	-	<i>Clostridium</i> sp.
1PB1	M2	61	+		X			A/A	+	-	+	-	-	-	<i>Bacillus cereus</i>
1PB3	M1	66	-		X			A/A	-	-	-	-	-	-	<i>Clostridium</i> spp.
1PB3	M3	68	+	X				K/K	+	-	+	-	+	-	<i>Bacillus subtilis</i>
1PB4	M3	73	-		X			A/A	-	-	-	-	+	-	<i>Clostridium</i> sp.
1PB4	M4	74	+	X				K/K	+	-	+	-	+	-	<i>Bacillus subtilis</i>
1PB5	M1	75	+	X				K/K	+	-	+	-	+	-	<i>Bacillus subtilis</i>
1PB7	M1	80A	-		X			A/A	-	-	-	-	+	-	<i>Clostridium</i> spp.
1PB7	M5	80E	+	X				K/K	+	-	+	-	+	-	<i>Bacillus subtilis</i>
1TB2	M3	85	+	X				K/K	+	-	+	-	+	-	<i>Bacillus subtilis</i>
1TB7	M3	99	-		X			A/A	-	-	-	-	+	-	<i>Clostridium</i> sp.
1TB7	M6	102	+		X			A/A	+	-	+	-	-	-	<i>Bacillus cereus</i>

Tabla 30. Identificación bacilos no esporulados primer muestreo

Código	Morfofoto	Anaerobio							SIM							Agar Sangre	Microorganism o identificado		
		Catalasa	Aerobio	Facultativa	Estricto	aerotolerante	TSI	Gas	Citrato	H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Urea	Reducción de NO ₃			Oxidasa	Motilidad a 25°C
1V B1	M3	+		X			K/ A		-	-	-	-	-	-	-	-	-	Alf a	<i>Corynebacteriu m</i> sp.
1V B2	M1	+		X			K/ A		-	-	-	-	-	-	-	-	-	bet a	<i>Corynebacteriu m</i> sp.
1V B3	M1	-		X			K/ A	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	Alf a	<i>Lactobacillus</i> sp.
1V B3	M2	+		X			K/ A		-	-	-	-	-	-	-	-	-	bet a	<i>Corynebacteriu m</i> sp.
1V B3	M4	+		X			A/ A		-	-	-	-	-	-	-	-	+	bet a	<i>Listeria</i> sp.
1V B4	M1	-		X			K/ A	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	Alf a	<i>Lactobacillus</i> sp.
1V B4	M3	+		X			K/ A		-	-	-	-	-	-	-	+	-	Alf a	<i>Corynebacteriu msp.</i>
1V B4	M8	+		X			A/ A		-	+	-	-	-	-	-	-	-	bet a	<i>Listeria</i> sp.

Código	Morfo tipo	Anaerobio						SIM							Agar Sangre	Microorganism o identificado		
		Catalasa	Aerobio	Facultativa	Estricto	aerotolerante	TSI	Gas	Citrato	H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Urea			Reducción de NO ₃	Oxidasa
1V B5	M4	-		X			K/ A	+	-	-	-	-	+	-	-		Alf a	<i>Lactobacillus</i> sp.
1V B5	M5	+		X			A/ A		-	-	-	-	-	-	-	+	bet a	<i>Listeria</i> sp.
1V B5	M8	+		X			K/ A		-	-	-	-	-	-	-		bet a	<i>Corynebacteriu</i> <i>m</i> sp.
1V B6	M2	+		X			K/ A		-	-	-	-	-	+			Alf a	<i>Corynebacteriu</i> <i>m</i> sp.
1V B6	M3	+		X			A/ A		-	+	-	-	-	-	-	+	bet a	<i>Listeria</i> sp.
1V B7	M1	+		X			A/ A		-	+	-	-	-	-	-	+	bet a	<i>Listeria</i> sp.
1SB 2	M2	+		X			A/ A		-	-	-	-	-	-	-	+	bet a	<i>Listeria</i> sp.
1SB 2	M6	-		X			K/ A	+	-	-	-	-	+	-	-		Alf a	<i>Lactobacillus</i> sp.
1SB 3	M2	+		X			A/ A		-	+	-	-	-	-	-	+	bet a	<i>Listeria</i> sp.

Código	Morfo tipo	Anaerobio						SIM							Agar Sangre	Microorganism o identificado		
		Catalasa	Aerobio	Facultativa	Estricto	aerotolerante	TSI	Gas	Citrato	H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Urea			Reducción de NO ₃	Oxidasa
1SB 4	M1	+		X			K/ A		-	-	-	-	-	-	+		Alf a	<i>Corynebacteriu m</i> sp.
1SB 4	M2	-		X			K/ A	+	-	-	-	-	+	-	-		Alf a	<i>Lactobacillus</i> sp.
1SB 4	M6	+		X			A/ A		-	-	-	-	-	-	-	+	bet a	<i>Listeria</i> sp.
1SB 5	M3	+		X			K/ A		-	+	-	-	-	-	-		bet a	<i>Corynebacteriu m</i> sp.
1SB 6	M1	-		X			K/ A	+	-	-	-	-	+	-	-		Alf a	<i>Lactobacillus</i> sp.
1SB 6	M2	X		X			A/ A		-	-	-	-	-	-	-	+	bet a	<i>Listeria</i> sp.
1SB 6	M3	+		X			K/ A		-	-	-	-	-	-	-		bet a	<i>Corynebacteriu m</i> sp.
1SB 7	M3	X		X			A/ A		-	-	-	-	-	-	-	+	bet a	<i>Listeria</i> sp..
1SB 7	M5	-		X			K/ A	+	-	-	-	-	+	-	-		Alf a	<i>Lactobacillus</i> sp.

Código	Morfofipo	Anaerobio						SIM							Agar Sangre	Microorganism mo identificado			
		Catalasa	Aerobio	Facultativa	Estricto	aerotolerante	TSI	Gas	Citrato	H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Urea			Reducción de NO ₃	Oxidasa	Motilidad a 25°C
1PB 1	M1	-		X			K/ A	-	-		-	-	+	-	-			Alf a	<i>Lactobacillus</i> sp.
1PB 1	M3	+		X			K/ A		-	-	-	-	-	-	-			bet a	<i>Corynebacteriu</i> <i>m</i> sp.
1PB 2	M1	+		X			K/ A		-	-	-	-	-	-	-			bet a	<i>Corynebacteriu</i> <i>m</i> sp.
1PB 2	M2	X		X			A/ A		-	+	-	-	-	-	-	-	+	bet a	<i>Listeria</i> sp.
1PB 3	M5	-		X			K/ A	-	-	+	-	-	+	-	-			Alf a	<i>Lactobacillus</i> sp.
1PB 5	M2	+		X			K/ A		-	-	-	-	-	-	+			Alf a	<i>Corynebacteriu</i> <i>m</i> sp.
1PB 5	M3	+		X			A/ A		-	-	-	-	-	-	-	-	+	bet a	<i>Listeria</i> sp.
1PB 6	M1	+		X			K/ A		-	-	-	-	-	-	+			Alf a	<i>Corynebacteriu</i> <i>m</i> sp.
1PB 6	M2	-		X			K/ A	-	-	+	-	-	+	-	-			Alf a	<i>Lactobacillus</i> sp.

Código	Morfotipo	Anaerobio						SIM							Agar Sangre	Microorganism o identificado		
		Catalasa	Aerobio	Facultativa	Estricto	aerotolerante	TSI	Gas	Citrato	H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Urea			Reducción de NO ₃	Oxidasa
1PB 7	M2	-		X			K/ A	-	-	+	-	-	+	-	-	-	Alf a	<i>Lactobacillus</i> sp.
1PB 7	M4	+		X			K/ A		-	-	-	-	-	-	+	-	Alf a	<i>Corynebacteriu</i> <i>m</i> sp..
1PB 7	M6	X		X			A/ A		-	+	-	-	-	-	-	+	bet a	<i>Listeria</i> sp.
1TB 1	M1	+		X			A/ A		-	-	-	-	-	-	-	+	bet a	<i>Listeria</i> sp.
1TB 1	M2	-		X			K/ A	+	-	-	-	-	+	-	-	-	Alf a	<i>Lactobacillus</i> sp.
1TB 2	M1	+		X			A/ A		-	-	-	-	-	-	-	+	bet a	<i>Listeria</i> sp.
1TB 2	M2	-		X			K/ A	-	-	+	-	-	+	-	-	-	Alf a	<i>Lactobacillus</i> sp.
1TB 2	M4	+		X			K/ A		-	-	-	-	-	-	+	-	Alf a	<i>Corynebacteriu</i> <i>m</i> sp.
1TB 3	M2	+		X			K/ A		-	-	-	-	-	-	-	-	bet a	<i>Corynebacteriu</i> <i>m</i> sp.

Código	Morfotipo	Anaerobio						SIM										Microorganismo identificado	
		Catalasa	Aerobio	Facultativa	Estricto	aerotolerante	TSI	Gas	Citrato	H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Urea	Reducción de NO ₃	Oxidasa	Motilidad a 25°C		Agar Sangre
1TB 5	M2	-		X			K/ A	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	Alfa	<i>Lactobacillus</i> sp.
1TB 7	M4	+		X			A/ A		-	-	-	-	-	-	-	-	+	beta	<i>Listeria</i> sp.

Tabla 31. Identificación de cocos grampositivos segundo muestreo.

Código	Morfotipo	Catalasa	Manitol	Oxidasa	Bacitracina	Aerobio	Anaerobio			Coagulasa	Agar sangre	Novobiocina	Microorganismo identificado
							Facultativo	Estricto	aerotolerante				
2VB1	M1	+	+	-	R		X			+	Alfa	R	<i>S. aureus</i>
2VB1	M4	+	-	+	S				X	+	Gama		<i>Micrococcus</i>
2VB2	M1	+	-	-	R		X		X	-	Gama	S	<i>s. epidermidis</i>
2VB2	M5	+	-	+	S				X	+	Gama		<i>Micrococcus</i>

Código	Morfotipo	Catalasa	Manitol	Oxidasa	Bacitracina	Aerobio	Anaerobio			Coagulasa	Agar sangre	Novobiocina	Microorganismo identificado
							Facultativo	Estricto	aerotolerante				
2VB3	M5	+	-	-	R			X	+	Gama	R	<i>s. saprophyticus</i>	
2VB4	M1	+	+	-	R	X			+	Alfa	R	<i>S. aureus</i>	
2VB4	M2	+	+	-	R	X			+	Alfa	R	<i>S. aureus</i>	
2VB5	M4	+	-	-	R	X		X	-	Gama	S	<i>s. epidermidis</i>	
2VB5	M8	+	-	-	R	X		X	-	Gama	S	<i>s. epidermidis</i>	
2VB7	M2	+	+	-	R	X			+	Alfa	R	<i>S. aureus</i>	
2VB7	M3	+	-	+	S			X	+	Gama		<i>Micrococcus</i>	
2VB7	M4	+	+	-	R	X			+	Alfa	R	<i>S. aureus</i>	
2TB1	M1	+	-	+	S			X	+	Gama		<i>Micrococcus</i>	
2TB3	M1	+	-	-	R	X		X	-	Gama	S	<i>s. epidermidis</i>	
2TB3	M3	+	-	+	S			X	+	Gama		<i>Micrococcus</i>	
2TB4	M1	+	-	-	R			X	+	Gama	R	<i>s. saprofiticus</i>	
2TB4	M3	+	+	-	R	X			+	Alfa	R	<i>S. aureus</i>	
2TB4	M4	+	-	+	S			X	+	Gama		<i>Micrococcus</i>	
2TB6	M6	+	+	-	R	X			+	Alfa	R	<i>S. aureus</i>	
2SB1	M3	+	+	-	R	X			+	Alfa	R	<i>S. aureus</i>	

Código	Morfotipo	Catalasa	Manitol	Oxidasa	Bacitracina	Aerobio	Anaerobio			Coagulasa	Agar sangre	Novobiocina	Microorganismo identificado
							Facultativo	Estricto	aerotolerante				
2SB4	M1	+	-	-	R		X	X	-	Gama	S	<i>s. epidermidis</i>	
2SB6	M4	+	-	-	R		X	X	-	Gama	S	<i>s. epidermidis</i>	
2SB7	M3	+	+	-	R		X		+	Alfa	R	<i>S. aureus</i>	
2PB4	M2	+	+	-	R		X		+	Alfa	R	<i>S. aureus</i>	
2PB6	M4	+	+	-	R		X		+	Alfa	R	<i>S. aureus</i>	
2PB6	M5	+	+	-	R		X		+	Alfa	R	<i>S. aureus</i>	
2PB5	M2	+	+	-	R		X		+	Alfa	R	<i>S. aureus</i>	

Tabla 32. Identificación de bacilos gramnegativos segundo muestreo

Código	Morfofoto	Anaerobio			Oxidasa	TSI	Citrato	SIM			Urea	MIO			LIA		Resultado	Descripción	Microorganismo identificado
		Catalasa	Aerobio	Facultativa				H ₂ S	Motilidad	Indol		Manitol	Gas	Indol	Ornitina	movilidad			
2 V B2	M 3	+	-	A /	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	Colonias color rosado con halo turbio	<i>E.coli</i>
2 V B3	M 1	+	+	K /	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	Colonias incoloras, transparentes, hay viraje del medio	<i>Pseudomonas</i> sp.
2 V B5	M 1	+	-	A /	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	Colonias color rosado con halo turbio	<i>E.coli</i>
2 V B6	M 1	+	+	K /	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	Colonias incoloras, transparentes, hay viraje del medio	<i>Pseudomonas</i> sp.
2T B3	M 4	+	-	A /	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	Colonias color rosado con consistencia mucosa	<i>Klebsiella</i> sp.
2S B1	M 4	+	-	A /	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	Colonias color rosado con consistencia mucosa	<i>Klebsiella</i> sp.

Código	Morfo tipo	Anaero bio			Oxidasa	TSI	Citrato	SIM		Manitol	Urea	MIO		LIA		Agar MacConkey		Microorganis mo identificado		
		Catalasa	Aerobio					H ₂ S	Motilidad			Indol	Gas	Indol	Ornitina	movilidad	descarboxilación		desaminacion	H ₂ S
2S B4	M 5	+		-	A /	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	Colonias color rosado con halo turbio	<i>E.coli</i>
2S B6	M 1	+		-	A /	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	Colonias color rosado con halo turbio	<i>E.coli</i>
2S B6	M 5	+		-	A /	-	-	+		-	-	+	+	+	+	+	-	-	Colonias color rosado con consistencia mucosa	<i>Klebsiella</i> sp.
2P B3	M 1	+		-	A /	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	Colonias color rosado con halo turbio	<i>E.coli</i>
2P B3	M 2	+		+	K /	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	Colonias incoloras, transparentes, hay viraje del medio	<i>Pseudomonas</i> sp.
2P B6	M 7	+		-	A /	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	Colonias color rosado con halo turbio	<i>E.coli</i>

Código	Morfofoto tipo	Anaero bio		Oxidasa	TSI	Citrato	SIM			Urea	MIO			LIA	Agar MacConkey		Descripción	Microorganis mo identificado	
		Aerobio	Facultativa				H ₂ S	Motilidad	Indol		Gas	Indol	Ornitina		movilidad	descarboxilación			desaminación
2P B7	M 1	+		-	A / A	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	Colonias color rosado con halo turbio	<i>E.coli</i>

Tabla 33. Identificación de bacilos grampositivos esporulados segundo muestreo.

Código	Morfofotipo	Catalasa	Aerobio	Anaerobio			TSI	Citrato	H ₂ S	SIM			Urea	Reducción de NO ₃	Microorganismo encontrado
				Facultativa	Estricto	aerotolerant ^e				Motilidad	Indol	Manitol			
2VB 1	M2	+		X			A/A	+	-	+	-	-	-	+	<i>Bacillus cereus</i>
2VB 1	M3	-					K/A	-						+	<i>Clostridium</i> sp.
2VB 1	M5	+					k/k	-						+	<i>Sin identificar</i>
2VB 2	M4	+					k/k	-						+	<i>Sin identificar</i>
2VB 3	M1	-					K/K	-						+	<i>Clostridium</i> sp.
2VB 3	M3	+					k/k	-						+	<i>Sin identificar</i>
2VB 3	M4	+					k/k	-						+	<i>Sin identificar</i>
2VB 3	M6	+					K/A	-						+	<i>Bacillus</i> sp.

Código	Morfolipo	Catalasa	Aerobio	Anaerobio			SIM							Microorganismo encontrado	
				Facultativa	Estricto	aerotolerant ^e	TSI	Citrato	H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Urea		Reducción de NO ₃
2VB 3	M7	+					K/A	-						+	<i>Bacillus</i> sp.
2VB 4	M3	+		X			A/A	+	-	+	-	-	-	+	<i>Bacillus cereus</i>
2VB 4	M4	-					K/K	-						+	<i>Clostridium</i> sp.
2VB 4	M5	-					K/K	-						+	<i>Clostridium</i> sp.
2VB 5	M3	-					K/A	-						+	<i>Clostridium</i> sp.
2VB 5	M7	+			X		K/K	-	-	-	-	-	-	-	<i>Bacillus coagulans</i>
2VB 5	M9	+			X		K/K	-	-	-	-	-	-	-	<i>Bacillus coagulans</i>
2VB 6	M2	-					K/A	-						+	<i>Clostridium</i> sp.
2VB 6	M3	+		X			A/A	+	-	+	-	-	-	+	<i>Bacillus cereus</i>
2VB 6	M4	-					K/A	-						+	<i>Clostridium</i> sp.

Código	Morfolipo	Catalasa	Aerobio	Anaerobio			SIM							Microorganismo encontrado	
				Facultativa	Estricto	aerotolerant ^e	TSI	Citrato	H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Urea		Reducción de NO ₃
2VB 6	M5	+				X	K/K	-	-	-	-	-	-	-	<i>Bacillus coagulans</i>
2VB 7	M1	+					A/A	-						+	<i>Bacillus</i> sp.
2TB 1	M2	-					K/A	-						+	<i>Clostridium</i> sp.
2TB 2	M2	+					A/A	-						+	<i>Bacillus</i> sp.
2TB 2	M4	+					k/k	-						+	Sin identificar
2TB 3	M2	+					A/A	-						+	<i>Bacillus</i> sp.
2TB 4	M2	+					k/k	-						+	Sin identificar
2TB 4	M5	-					K/A	-						+	<i>Clostridium</i> sp.
2TB 4	M6	-					K/A	-						+	<i>Clostridium</i> sp.
2TB 5	M1	+		X			A/A	+	-	+	-	-	-	+	<i>Bacillus cereus</i>

Código	Morfolipo	Catalasa	Aerobio	Anaerobio			SIM							Microorganismo encontrado		
				Facultativa	Estricto	aerotolerant ^e	TSI	Citrato	H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Urea		Reducción de NO ₃	
2TB 6	M1	+					A/A	-							+	<i>Bacillus</i> sp.
2TB 6	M2	-					K/A	-							+	<i>Clostridium</i> sp.
2TB 6	M3	-					K/A	-							+	<i>Clostridium</i> sp.
2TB 6	M4	-					K/A	-							+	<i>Clostridium</i> sp.
2TB 6	M5	+		X			A/A	+	-	+	-	-	-	-	+	<i>Bacillus cereus</i>
2TB 7	M1	+		X			A/A	+	-	+	-	-	-	-	+	<i>Bacillus cereus</i>
2SB1	M1	+				X	K/K	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Bacillus coagulans</i>
2SB1	M2	+				X	K/K	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Bacillus coagulans</i>
2SB1	M4	+					A/A	-							+	<i>Bacillus</i> sp.
2SB2	M1	+					A/A	-							+	<i>Bacillus</i> sp.
2SB2	M2	+				X	K/K	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Bacillus coagulans</i>
2SB3	M1	+					A/A	-							+	<i>Bacillus</i> sp.

Código	Morfolipo	Catalasa	Aerobio	Anaerobio			TSI	Citrato	H ₂ S	SIM				Reducción de NO ₃	Microorganismo encontrado
				Facultativa	Estricto	aerotolerant ^e				Motilidad	Indol	Manitol	Urea		
2SB3	M2	+					K/K	-						-	<i>Bacillus</i> sp.
2SB3	M3	+					A/A	-						+	<i>Bacillus</i> sp.
2SB4	M2	+		X			K/A	+						+	<i>Bacillus</i> sp.
2SB4	M4	+					K/A	-						+	<i>Bacillus</i> sp.
2SB5	M1	+	X				K/K	+	-	+	-	+	-	+	<i>Bacillus subtilis</i>
2SB5	M2	+					k/k	-						+	Sin identificar
2SB5	M3	+		X			A/A	+	-	+	-	-	-	+	<i>Bacillus cereus</i>
2SB5	M4	+					A/A	-						+	<i>Bacillus</i> sp.
2SB7	M2	+				X	K/K	-	-	-	-	-	-	-	<i>Bacillus coagulans</i>
2SB7	M6	+					A/A	-						+	<i>Bacillus</i> sp.
2PB1	M1	-					K/A	-						+	<i>Clostridium</i> sp.
2PB1	M2	+					A/A	-						+	<i>Bacillus</i> sp.
2PB2	M2	+	X				K/K	+	-	+	-	+	-	+	<i>Bacillus subtilis</i>
2PB2	M3	+					A/A	-						+	<i>Bacillus</i> sp.
2PB4	M1	-					K/A	-						+	<i>Clostridium</i> sp.
2PB4	M3	+	X				K/K	+	-	+	-	+	-	+	<i>Bacillus subtilis</i>

Código	Morfofotoipo	Catalasa	Aerobio	Anaerobio			TSI	Citrato	SIM					Reducción de NO ₃	Microorganismo encontrado
				Facultativa	Estricto	aerotolerant ^e			H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Urea		
2PB4	M4	+					A/A	-						+	<i>Bacillus</i> sp.
2PB5	M1	-					K/A	-						+	<i>Clostridium</i> sp.
2PB5	M3	-					K/A	-						+	<i>Clostridium</i> sp.
2PB5	M4	-					K/A	-						+	<i>Clostridium</i> sp.
2PB6	M1	+					A/A	-						+	<i>Bacillus</i> sp.
2PB6	M3	+					k/k	-						+	<i>Sin identificar</i>
2PB6	M6	+		X			A/A	+	-	+	-	-	-	+	<i>Bacillus cereus</i>

Tabla 34. Identificación de bacilos grampositivos no esporulados.

Código	Morfofi po	Anaerobio					SIM										Microorganism o identificado			
		Catalasa	Aerobio	Facultativa	Estricto	Aerotolerante	TSI	Gas	oxidasa	Citrato	H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Urea	LIA		reducción NO ₃	Agar Sangre	Motilidad 25°C
2VB2	M2	+		X			K/ K	+	-	-	-	-	-	-	-		Beta			<i>Corynebacteriu m sp.</i>
2VB3	M2	-		X			A/ A	-	-	-	-	-	-	+	-		alfa			<i>Lactobacillus spp</i>
2VB5	M2	+					K/ K	+	-	-	-	-	-	-	-					<i>Corynebacteriu m sp.</i>
2VB5	M5						K/ K	+	-	-	-	-	-	-	-					<i>Corynebacteriu m sp.</i>
2VB5	M6	+					K/ K	+	-	-	-	-	-	-	-					Sin identificar
2VB7	M5	+					K/ K	+	-	-	-	-	-	-	-	-				<i>Corynebacteriu m sp.</i>
2TB1	M3	-		X			A/ A	-	-	-	-	-	-	+	-		alfa			<i>Lactobacillus spp</i>
2TB2	M1	+					K/ K	+	-	-	-	-	-	-	-	-				<i>Corynebacteriu m sp.</i>
2TB2	M3	+					K/ K	+	-	-	-	-	-	-	-					<i>Corynebacteriu m sp.</i>
2TB2	M5	+		X			K/ K	+	-	-	-	-	-	-	-		Beta			<i>Corynebacteriu m sp.</i>
2TB5	M2	+		X			K/ K			-	-	-	-	-	-		Gam a	+		<i>Listeria sp.</i>
2SB4	M3	+		X			K/ K			-	-	-	-	-	-		Gam a	+		<i>Listeria sp.</i>
2SB6	M2						K/ K	+	-	-	-	-	-	-	-					<i>Corynebacteriu m sp.</i>

Código	Morfotipo	Anaerobio					SIM										Microorganismo identificado			
		Catalasa	Aerobio	Facultativa	Estricto	Aerotolerante	TSI	Gas	oxidasa	Citrato	H ₂ S	Motilidad	Indol	Manitol	Urea	LIA		reducción NO ₃	Agar Sangre	Motilidad 25°C
2SB6	M3	+	X			K/ K	+	-	-	-	-	-	-	-	-					<i>Corynebacterium</i> sp.
2SB7	M1	+	X			K/ K	+	-	-	-	-	-	-	-	-		Beta			<i>Corynebacterium</i> sp.
2SB7	M4	+	X			K/ A		-	-	-	-	-	-	-	-		Beta	+		<i>Corynebacterium</i> sp.
2SB7	M5	+	X			K/ A		-	-	-	-	-	-	-	-		Beta	+		<i>Corynebacterium</i> sp.
2PB2	M1	-	X			A/ A	-	-	-	-	-	-	+	-	-		alfa			<i>Lactobacillus</i> sp.
2PB2	M4	-	X			A/ A	-	-	-	-	-	-	+	-	-		alfa			<i>Lactobacillus</i> sp.
2PB6	M2	-	X			A/ A	-	-	-	-	-	-	+	-	-		alfa			<i>Lactobacillus</i> sp.

Anexo G

Tabla 35. *Cuantificación de las muestras de ADN bacteriano*

#	Sample ID	Concentración de DNA ng/μl	Concentración de DNA de trabajo ng/μl
1	2VB2M4	51,9	30
2	2VB3M3	3,2	30
3	2VB3M1	19,12	30
4	2TB6M1	73,1	30
5	2SB7M4	33	30
6	2VB1M3	57,86	30
7	2SB7M1	23,1	30
8	2SB6M2	21,6	30
9	2VB4M5	11,63	30
10	2SB3M2	1,7	30
11	2PB6M1	18	30
12	2TB3M2	3,6	30
13	1VB4M9	14,83	30
14	1TB3M1	91,73	30

Anexo H. Registro fotográfico



Figura 7 Cabina de flujo laminar



Figura 8 Autoclave



Figura 9 Baño María



Figura 10 THERMO SCIENTIFIC NANODROP 2000



Figura 11 Termociclador MultiGeneOptiMaxThermalCycler

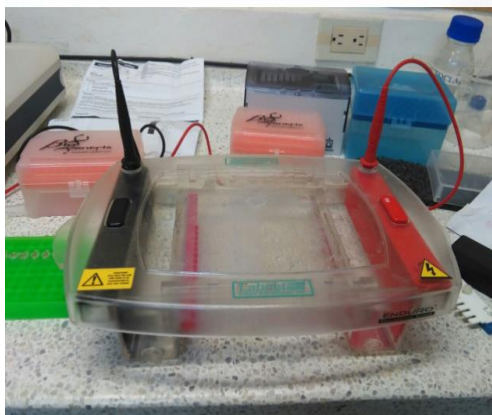


Figura 12 Equipo de electroforético.



*Figura 13.*Microscopio óptico.



Figura 14. Centrifuga



Figura 15. Balanza analítica



Figura 16. Incubadora



Figura 17. Agitador magnético

Anexo I Procedimientos en laboratorio



Figura 18. Inoculación de bacterias.

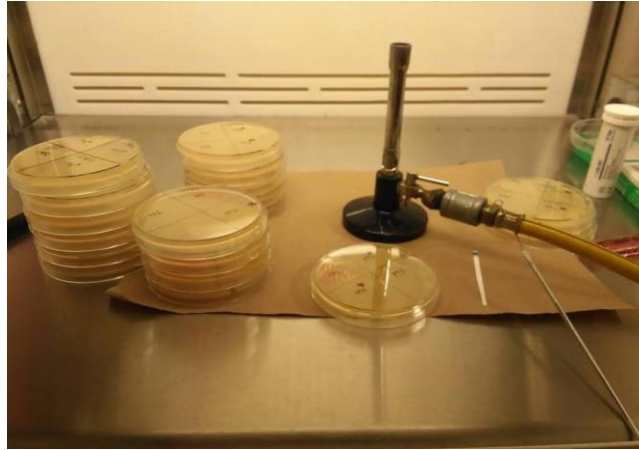


Figura 19. Bacterias sembradas en Agar Nutritivo.

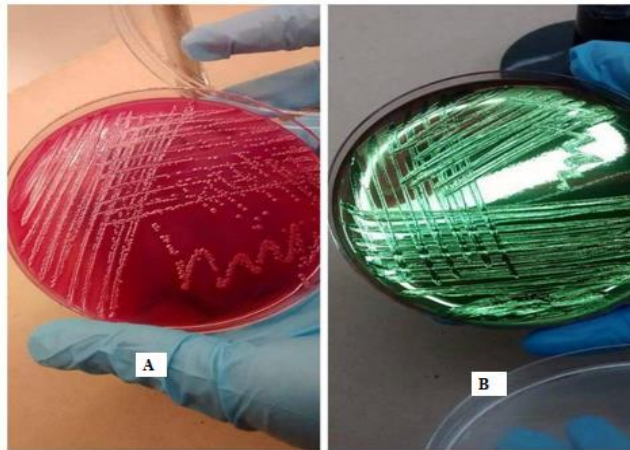


Figura 20. Escherichia coli A. Agar MacConkey y B. Agar EMB.



Figura 21. Extracción de ADN

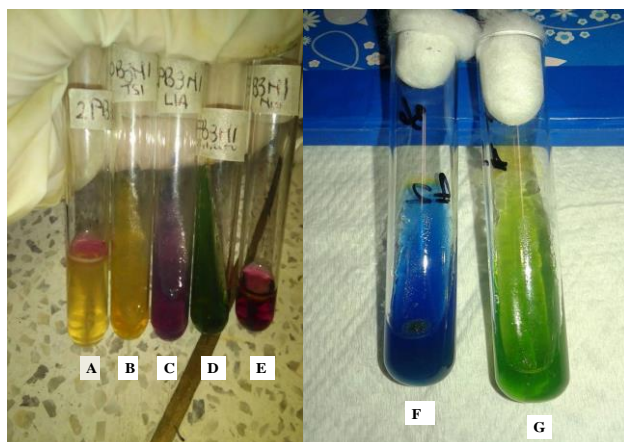


Figura 22. Pruebas bioquímicas (A. Agar Manitol +; B. Agar TSI A/A; C. Agar LIA + descarboxilacion; D. Agar Citrato -; E. Urea -)



Figura 23. Amplificación de ADN

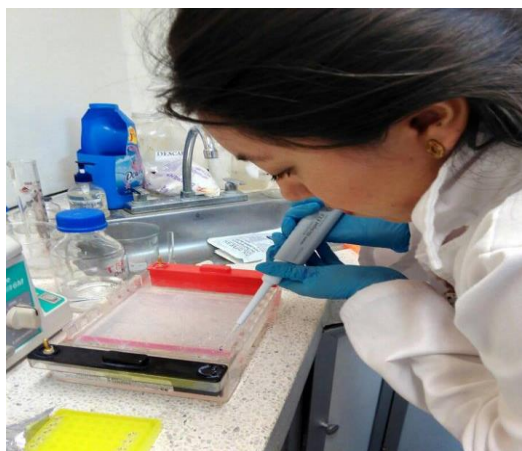
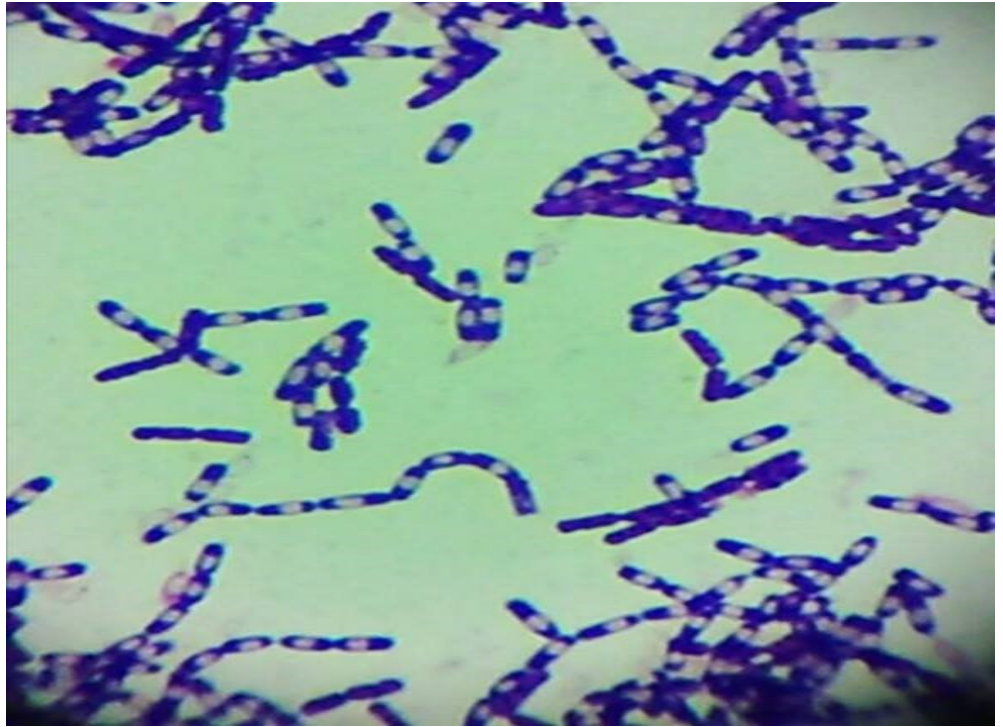


Figura 24. Electroforesis.



Figura 25. Preparación de medios de cultivo.



¿Te has preguntado que bacterias se encuentran en los objetos que usas a diario?

Jessica Roxana Muñoz Urbano

Ana Milena Nández Babbage

Asesora:

Sonia Echeverry Hernández



¿QUÉ ES UNA BACTERIA?

Las bacterias son microorganismos presentes en todo tipo de superficies, se encuentra gran diversidad de especies según las condiciones que necesitan para sobrevivir y se diferencian por su estructura y morfología. Cualquier persona, animal, objeto o lugar puede ser un foco para la proliferación de una población bacteriana.

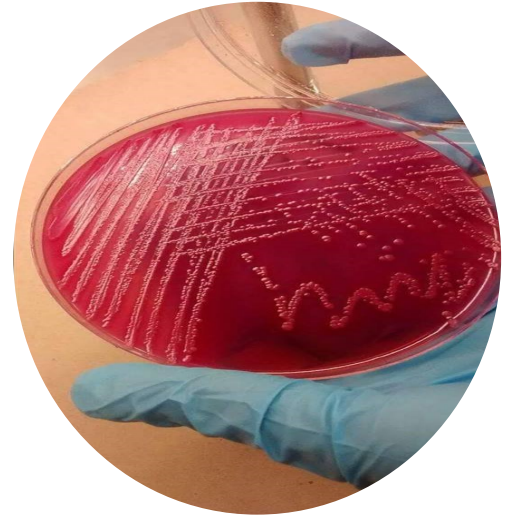


Imagen 1. Escherichia coli en Agar MacConkey

¿Sabías qué?

Los objetos que usas a diario pueden albergar bacterias que se transmiten a tus manos y de estas a los alimentos que consumes.



Imagen 2. Objetos de uso diario (computador)

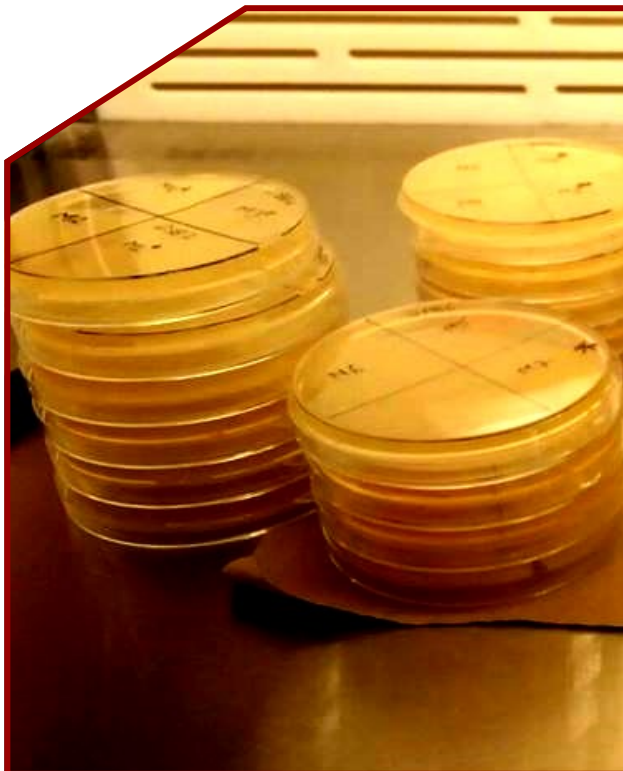
Distintos objetos de uso diario como pasamanos de colectivos de servicio público, billetes, cajeros automáticos, celulares, entre otros, están expuestos a las bacterias, que como bien es conocido según sus características estas pueden tener un carácter patógeno. Estos sitios son denominados por la comunidad científica como fómites, es decir ambientes inanimados que intervienen en la diseminación de una infección.

La vida de nuestro planeta se sostiene principalmente por las bacterias, las cuales pueden ser utilizadas con fines agrícolas, biomédicos y biorremediadores.

Beneficios.

La gran mayoría de bacterias son benéficas...

Imagen 3. Bacterias en Agar Nutritivo después de 24 horas de incubar a 37°C.



Las características que posee el metabolismo bacteriano han llamado la atención de los investigadores, quienes se interesan en descubrir las nuevas especies y las potencialidades que se puedan aplicar al beneficio humano (García et.al, 2010).

Un porcentaje muy pequeño de las bacterias que hasta ahora han sido identificadas poseen un carácter patógeno. Las bacterias presentes en las superficies de objetos inanimados producen principalmente enfermedades gastrointestinales, de la piel y respiratorias. (Forbes et. Al, 2009)

INVESTIGACIÓN

Bacterias en las superficies de los buses de transporte público de la ciudad de Neiva, Huila.



Imagen 4. Procesamiento de muestras

Debido a que la ciudad de Neiva posee un clima propicio para el crecimiento de microorganismos, se realizó un estudio para caracterizar del tipo de bacterias presentes en los tubos de buses (pasamanos), silletería, ventanas y timbre del servicio público de la ciudad, ya que a diario este servicio colectivo maneja una gran cantidad de pasajeros.



Esta situación expone a las personas a adquirir enfermedades y a generar la contaminación cruzada, dado que muchas de ellas al llegar a su sitio de destino no se lavan las manos y entran en contacto con otras personas ya sea por manipulación de alimentos, un saludo u otros factores que facilitan este tipo de contaminación.

Otras investigaciones.

El amplio interés en esta temática se ha estudiado en diferentes países: en el Centro Universitario de México en el Laboratorio de Jóvenes hacia la Investigación, el biólogo Julián José Náder García y su equipo de investigación realizaron un estudio sobre las bacterias presentes en el sistema colectivo Metro al interior de los vagones, encontrando colonias de bacterias como estafilococos, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. y *Escherichia coli* que presentan un grado de patogenicidad elevado para el ser humano.

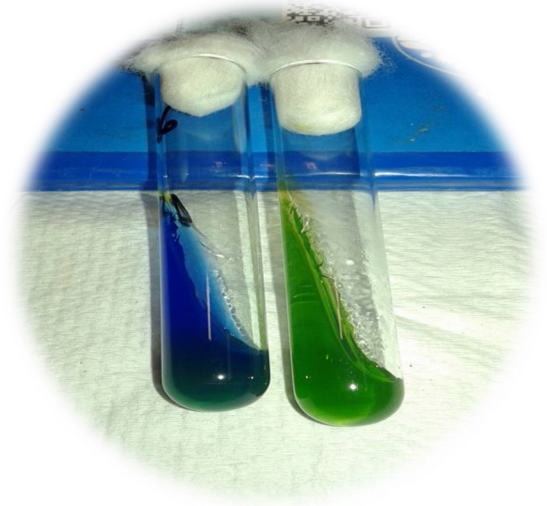


Imagen 5. Identificación de pruebas bioquímicas

Por otra parte, una investigación hecha en New York por Christopher E. Mason del Weill Cornell Medical College, encontró que en casi la mitad de la cartografía de ambientes urbanos hay bacterias desconocidas, que al contrastarlas con un estudio del “microbioma del aire” de esta ciudad, corresponden a los hallazgos de ADN secuenciado para especies no determinadas (Afshinnekoo, et al., 2013).

Se realizó el muestreo de 17 vehículos escogidos de forma aleatoria en cuatro puntos de referencia y horarios correspondientes, de los cuales se aislaron e identificaron las bacterias y se correlacionó estos resultados con las enfermedades que estas pueden causar y el lugar donde se pueden aislar.

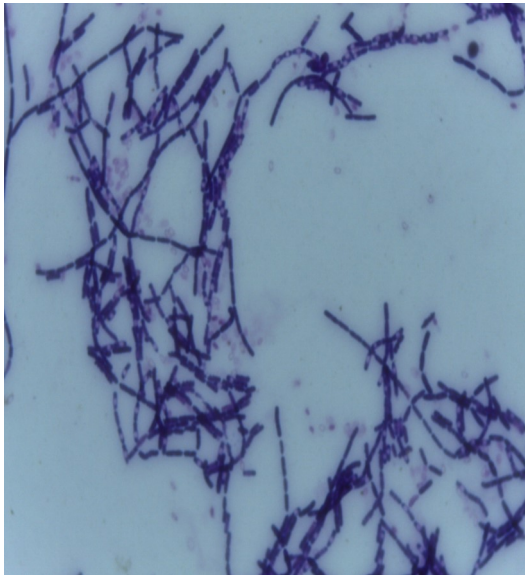


Imagen 6. Bacilos grampositivos esporulados

Géneros y especies.

- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Staphylococcus saprophyticus*
- *Micrococcus* spp
- *Escherichia coli*
- *Aeromonas* spp
- *Pseudomonas* spp
- *klebsiella* spp
- *Pasteurella* spp
- *Shigella* spp.
- *Enterobacter* spp
- *Clostridium* spp
- *Bacillus cereus*
- *Bacillus coagulans*
- *Bacillus subtilis*
- *Bacillus* spp.
- *Corynebacterium* spp
- *Listeria* spp.
- *Lactobacillus* spp

Puntos de interés:

- Los fómites representan un factor importante en la transmisión de microorganismos patógenos y debido a la afluencia de personas que hacen uso de este transporte.
- Los resultados del proyecto son un impacto a nivel de la salud pública de la Ciudad, ya que permite tomar conciencia de la importancia de las correctas prácticas de higiene para evitar el contagio de enfermedades después de estar contacto con este tipo de superficies.

Importancia de los buenos hábitos de higiene.

Una buena forma de evitar el contagio de enfermedades por el contacto con bacterias patógenas, es tener una práctica de higiene adecuada como el lavado de manos que según la Organización Mundial de la salud (OMS) previene enfermedades como la diarrea y la neumonía, que a nivel mundial causan al año la muerte de más de 3,5 millones de niños menores de 5 años. Es tanta la importancia de este aspecto, que se estableció desde el 15 de octubre de 2008 el Día Internacional del lavado de manos, en el mundo se busca crear una concienciación sobre la importancia de esta práctica.

Según la UNICEF el lavado de manos con agua y jabón es un hábito de higiene básico que previene el contagio de muchas enfermedades como:

- ⇒ Neumonía
- ⇒ Enfermedad diarreica aguda
- ⇒ Enfermedades de la piel
- ⇒ Enfermedades de los ojos
- ⇒ Parasitismo intestinal



Imagen 7. Lavado de manos



¿Cuándo lavar las manos?



La principal razón por la que se lava las manos una persona es porque están sucias, pero el lavado de manos es necesario en ciertos momentos de la vida y no se debe confiar en que estas tengan un aspecto limpio. La mayoría de los objetos que utilizamos a diario están contaminados por microorganismos, es decir que las superficies inanimadas están implicadas en la cadena de transmisión (Mahl y Sadler, 1975). Se debe realizar el lavado de manos con agua y jabón en las siguientes situaciones.

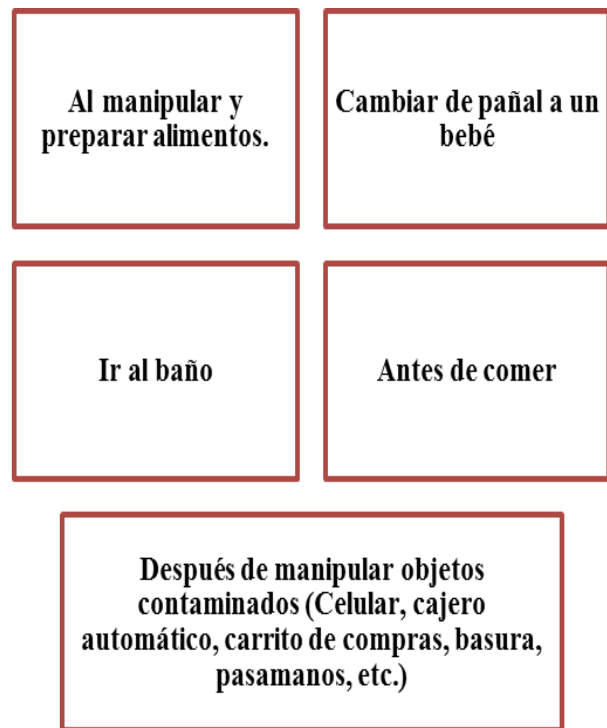
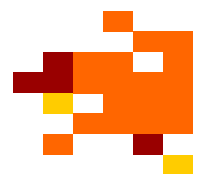


Imagen 8. Situaciones en las que es necesario el lavado de manos





¿Cómo lavar las manos?

HIGIENE

A continuación, se puede observar una imagen tomada de OMS (2012) que contiene los pasos a seguir para tener unas manos limpias y seguras es corto, consta principalmente de agua, jabón, frotar bien las superficies de las manos y secar con una toalla limpia.

Imagen 9. Pasos para un correcto lavado de manos





Según la UNICEF, los hábitos de higiene adecuados, en particular el lavado de manos con jabón, puede reducir de la incidencia de diarrea en un 50%, que es la segunda causa de muerte en los niños menores de 4 años. También, se ha demostrado que esta práctica, reduce la incidencia de enfermedades como neumonía, afecciones relacionadas con la diarrea como el cólera y la disentería. (Luby et. al, 2005)

HIGIENE



Imagen 10. Reducción de nitratos

Por otra parte, una investigación hecha en New York por Christopher E. Mason del Weill Cornell Medical College, encontró que en casi la mitad de la cartografía de ambientes urbanos hay bacterias desconocidas, que al contrastarlas con un estudio del “microbioma del aire” de esta ciudad, corresponden a los hallazgos de ADN secuenciado para especies no determinadas (Afshinnekoo, et al., 2013).

¡Lavar tus manos salva vidas!

BIBLIOGRAFIA

Afshinnekoo, E., Meydan, C., Chowdhury, S., Jaroudi, D., Boyer, C., Bernstein, N., Mason, C. E. (2015). *Geospatial Resolution of Human and Bacterial Diversity with City-Scale Metagenomics*. Cell Systems, 1(1), 72–87. <http://doi.org/10.1016/j.cels.2015.01.001>

Forbes, B. A., Bailey, W. R., Scott, E. G., Sahm, D. F., Weissfeld, A. S., & Trevino, E. A. (2009). *Bailey & Scott diagnóstico microbiológico*. Buenos Aires: Panamericana.

Hernández, C.B.; Pimentel, J.; Nader, J. J y Herrera, I. (2013). *Bacterias por tres pesos*. Centro universitario México. Laboratorio de Jóvenes hacia la Investigación. México.

Luby, S., Agboatwalla, M., Feikin, D. R., Painter, J., Billhimer, W., Altaf, A. y Hoekstra, R. (2005). *Effect of handwashing on child health: a randomised controlled trial*. Volumen 366, N° 9481 , p225-233 Recuperado de: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)66912-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(05)66912-7)

Morales Y. E. , Duque, E., Rodríguez, O. , Torre, J , Martínez, R. D., Pérez, R. y Muñoz, J. (2010). *Bacterias Preservadas, una Fuente Importante de Recursos Biotecnológicos*. BioTecnología, Vol. 14 No. 2

Mahl MC y Sadler C (1975) Virus survival on inanimate surfaces. *Canadian Journal of Microbiología* 21, 819 - 823. Recuperado de: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-3156.2006.01568.x/full>

OMS (2012). Seguridad del paciente. Alianza mundial en pro de una atención de salud más segura, Ginebra. Recuperado de: <http://www.who.int/patientsafety/es/>



UNIVERSIDAD
SURCOLOMBIANA



FACULTAD DE EDUCACIÓN