

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI**

**DIRECCIÓN DE POSGRADO**



**MAESTRÍA EN MICROBIOLOGÍA CON MENCIÓN EN  
MICROBIOLOGÍA APLICADA**

**“Caracterización de las bacterias patógenas en superficies del transporte público urbano vinculadas a un hospital público”**

Trabajo de titulación previa la obtención del  
Título de Magister en Microbiología  
con mención en Microbiología Aplicada

**Autora:** MSc. Orbe Muñoz Laura Cristina

**Tutor:** PhD. Anchundia Lucas Miguel Ángel

Tulcán, 2026

## CERTIFICADO DEL TUTOR

Certifico que la maestrante Orbe Muñoz Laura Cristina con el número de cédula 0302978945 ha elaborado el trabajo de titulación “Caracterización de las bacterias patógenas en superficies del transporte público urbano vinculadas a un hospital público”.

 Firmado electrónicamente por:  
**MIGUEL ANGEL  
ANCHUNDIA LUCAS**  
Validar únicamente con FirmaEC  
f.....

**PhD. Miguel Ángel Anchundia Lucas**

Tulcán, 2026

## AUTORÍA DE TRABAJO

El presente trabajo de titulación constituye un requisito previo para la obtención del título de Magister en Microbiología con mención en Microbiología Aplicada.

Yo, Orbe Muñoz Laura Cristina, ciudadana ecuatoriana con cédula de identidad número 0302978945 declaro: que la investigación es absolutamente original, autentica, personal y los resultados y conclusiones a los que he llegado con de mi absoluta responsabilidad.



f.....

**MSc. Laura Cristina Orbe Muñoz**

Tulcán, 2026

## ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DE TDT

Yo, Orbe Muñoz Laura Cristina declaro ser autora de los criterios emitidos en el trabajo de titulación: “Caracterización de las bacterias patógenas en superficies del transporte público urbano vinculadas a un hospital público” y eximo expresamente a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.



f.....

**MSc. Laura Cristina Orbe Muñoz**

Tulcán, 2026

## **DEDICATORIA**

Dedico este logro, en primer lugar, a Dios, por acompañarme en cada momento, por darme fortaleza cuando el camino parecía difícil y por permitirme alcanzar esta meta.

A mi mami, con un amor y gratitud inmensos, por acompañarme en esos viajes largos y sacrificados, por estar a mi lado en cada trayecto y por demostrarme que su apoyo no tiene límites. Este logro también es tuyo, porque caminaste conmigo en cada esfuerzo.

A mis hermanos, por ser mi apoyo incondicional en cada etapa de este camino. Gracias por estar presentes en los momentos difíciles y por llenar de alegría los días buenos. Su cariño, sus palabras de aliento y su confianza en mí han sido esenciales para seguir adelante.

Y a mi Chiky, por acompañarme estos 14 años llenos de amor, por recibirme siempre con alegría después de días largos de estudio y por regalarme esos momentos de ternura que aliviaban cualquier cansancio.

Con todo mi corazón, dedico esta meta a quienes han sido mi fuerza, mi apoyo y mi mayor motivación.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por ser mi guía y fortaleza en cada etapa de este camino. Por darme perseverancia y la oportunidad de culminar esta meta tan importante en mi vida profesional y personal.

A mi director de tesis, por su acompañamiento constante y sus valiosas enseñanzas que enriquecieron significativamente esta etapa. Su compromiso y dedicación fueron fundamentales para el desarrollo y culminación de este trabajo.

A los docentes de la maestría, quienes con su experiencia y conocimientos contribuyeron a mi formación profesional.

A mi familia, por su amor incondicional, paciencia y apoyo. Gracias por ser mi sostén en los momentos de dificultad y por celebrar conmigo cada logro alcanzado.

A mis amigos y compañeros de estudio, por su motivación, colaboración y por compartir este proceso de aprendizaje y crecimiento.

Finalmente, a todas las personas e instituciones que de una u otra manera aportaron a la realización de esta tesis y a mi desarrollo académico.

## ÍNDICE

CAPÍTULO I.....	1
PROBLEMA.....	1
1.1. Planteamiento del problema.....	1
1.2. Preguntas de investigación, hipótesis, o idea a defender.....	3
1.3. Objetivos de investigación.....	3
1.3.1. Objetivo General.....	3
1.3.2. Objetivos Específicos.....	3
1.4. Justificación.....	4
CAPÍTULO II.....	5
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	5
2.1. Antecedentes.....	5
2.2. Marco teórico.....	7
2.2.1. Composición de la microbiota ambiental.....	7
2.2.2. Fómites en la transmisión de enfermedades.....	8
2.2.3. Resistencia Antimicrobiana (RAM).....	9
2.2.4. Mecanismos de Resistencia Antimicrobiana.....	10
2.2.5. El transporte público como potencial reservorio de microorganismos.....	11
2.2.6. Técnicas microbiológicas.....	12
CAPÍTULO III.....	13
METODOLOGÍA.....	13
3.1. Descripción del área de estudio/Grupo de estudio.....	13
3.1.1. Población y muestra.....	13
3.2. Enfoque y tipo de investigación.....	14
3.3. Definición y operacionalización de variables.....	14
3.3.1. Variable dependiente:.....	14
3.3.2. Variable independiente:.....	15

3.4. Procedimientos.....	16
3.4.1. Fase I: Muestreo en las unidades de transporte .....	16
3.4.2. Fase II: Aislamiento e Identificación Bioquímica de Patógenos.....	17
3.4.3. Fase III: Determinación de Perfiles de Resistencia Antimicrobiana (RAM) .	18
3.4.4. Fase IV: Análisis e Interpretación Estadística de Datos.....	19
CAPÍTULO IV .....	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
4.1. Resultados .....	20
4.1.1. Prevalencia de bacterias patógenas según superficie, horario y día.....	20
4.1.2. Distribución de especies bacterianas aisladas .....	21
4.1.3. Resistencia antimicrobiana y multirresistencia (MDR) .....	23
4.2. Discusión .....	27
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	30
CONCLUSIONES.....	30
RECOMENDACIONES .....	31
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	32
ANEXOS.....	38

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b>	Operacionalización de variables.....	15
<b>Tabla 2</b>	Prevalencia de bacterias patógenas según el tipo de superficie .....	20
<b>Tabla 3</b>	Prevalencia de bacterias patógenas según el horario de muestreo .....	21
<b>Tabla 4</b>	Prevalencia de bacterias patógenas según el día de la semana.....	21
<b>Tabla 5</b>	Distribución de especies bacterianas aisladas según el tipo de superficie .....	22
<b>Tabla 6</b>	Distribución de especies bacterianas aisladas según el horario de muestreo .....	22
<b>Tabla 7</b>	Distribución de especies bacterianas aisladas según el día de la semana .....	23
<b>Tabla 8</b>	Resistencia antimicrobiana detallada por tipo de superficie .....	24
<b>Tabla 9</b>	Resistencia antimicrobiana detallada por horario de muestreo .....	24
<b>Tabla 10</b>	Resistencia antimicrobiana detallada por día de la semana .....	25
<b>Tabla 11</b>	Multirresistencia (MDR) distribuida por tipo de superficie.....	25
<b>Tabla 12</b>	Multirresistencia (MDR) distribuida por horario de muestreo.....	25
<b>Tabla 13</b>	Multirresistencia (MDR) distribuida por día de la semana .....	26
<b>Tabla 14</b>	Presencia de fenotipos BLEE y SARM según variable independiente, calculados sobre el total de aislamientos bacterianos correspondientes. ....	26

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo A</b> Ficha de Registro de muestreo de las Unidades de Transporte .....	38
<b>Anexo B</b> Ficha de registro de Aislamientos e identificación Bacteriana .....	39
<b>Anexo C</b> Ficha de Registro de Antibiógramas .....	40
<b>Anexo D</b> Perfil bioquímico característico de E. coli aislada del estudio .....	41
<b>Anexo E</b> Antibiógrama de cepa productora de BLEE, evidenciando sinergia con ácido clavulánico ..	42
<b>Anexo F</b> Antibiógrama de S. aureus con resistencia a cefoxitina compatible con fenotipo SARM. ....	43

## RESUMEN

La resistencia antimicrobiana (RAM) representa una amenaza crítica para la salud pública global, siendo el transporte público urbano un escenario favorable para la dispersión de bacterias patógenas debido al contacto frecuente de los usuarios con superficies compartidas. En la ciudad de Cuenca, existe un vacío de información sobre la carga microbiológica en estos entornos, lo que dificulta la implementación de estrategias de vigilancia ambiental. Por ello, la presente investigación tuvo como objetivo caracterizar las bacterias patógenas *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Enterobacteriaceae*, presentes en las superficies de las unidades de transporte que conectan con el Hospital José Carrasco Arteaga, en la ciudad de Cuenca, Ecuador. Los objetivos específicos incluyeron la identificación bioquímica y la determinación de sus perfiles de resistencia antimicrobiana, con especial atención a SARM, BLEE y carbapenemasas. Se realizó un estudio experimental-descriptivo de enfoque cuantitativo, con diseño observacional y transversal. La población estuvo constituida por ocho unidades de transporte urbano, seleccionadas mediante muestreo aleatorio simple. Se recolectaron 160 muestras compuestas de pasamanos metálicos y agarraderas plásticas durante cinco semanas, en horarios de alta afluencia. Se evidenció un índice de positividad del 56.25%, destacando la presencia de *Escherichia coli* (53.3%) y la detección de un 14.7% de cepas productoras de BLEE. Se concluye que el transporte público urbano funciona como un reservorio y vehículo de diseminación de patógenos resistentes, relacionando el ámbito hospitalario y la comunidad. Estos hallazgos aportan información clave para fortalecer la vigilancia epidemiológica ambiental, mejorar los protocolos de desinfección y orientar estrategias de educación sanitaria, contribuyendo así a la prevención de infecciones y a la lucha contra la resistencia antimicrobiana.

**Palabras clave:** bacterias patógenas, resistencia antimicrobiana, transporte público urbano.

## ABSTRACT

Antimicrobial resistance (AMR) has emerged as one of the most significant challenges to global public health. Urban public transportation systems provide a favorable environment for the transmission of pathogenic bacteria due to the frequent contact of passengers with shared surfaces. In the city of Cuenca, limited information is available regarding the microbiological contamination of these environments, restricting the development and implementation of effective environmental surveillance strategies. Therefore, this study aimed to characterize the pathogenic bacteria *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and members of the *Enterobacteriaceae* family isolated from the surfaces of public transportation units operating on routes serving José Carrasco Arteaga Hospital in Cuenca, Ecuador. Additionally, the study aimed to identify these microorganisms using biochemical methods and determine their antimicrobial resistance profiles, with particular emphasis on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing strains, and carbapenemase-producing bacteria. A quantitative experimental-descriptive study with a cross-sectional observational design was conducted. The study population comprised eight urban public transportation units selected through simple random sampling. A total of 160 composite samples were collected from metal handrails and plastic handgrips over a five-week period during peak passenger traffic hours. An overall positivity rate of 56.25% was observed, with *Escherichia coli* representing the most frequently identified microorganism (53.3%). Furthermore, 14.7% of the isolates were identified as ESBL-producing strains. The findings suggest that urban public transportation may act as both a reservoir and a dissemination route for antimicrobial-resistant pathogens, facilitating their circulation between healthcare settings and the community. These results provide valuable evidence to strengthen environmental epidemiological surveillance programs, improve cleaning and disinfection protocols, and support public health education initiatives. Ultimately, such measures may contribute to reducing the spread of infections and mitigating the growing threat of antimicrobial resistance. Keywords: pathogenic bacteria; antimicrobial resistance; urban public transportation.

**Keywords:** antimicrobial resistance, pathogenic bacteria, urban public transportation.

# CAPÍTULO I

## PROBLEMA

### 1.1. Planteamiento del problema

El transporte público urbano es un servicio básico para la movilidad en las ciudades, pero también representa un escenario favorable para la dispersión de microorganismos patógenos. El flujo masivo de pasajeros y el contacto frecuente con superficies compartidas, como pasamanos, puertas y asientos, facilitan que diversos microorganismos se depositen y sobrevivan en forma de “fómites”, aumentando el riesgo de transmisión de infecciones (Kahsay, Asgedom y Weldetinsaa 2019). Diversos estudios han demostrado que estos entornos albergan bacterias de importancia clínica, entre ellas *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Shigella spp* y *Staphylococcus aureus*, así como patógenos prioritarios para la Organización Mundial de la Salud (OMS), como *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*, cuya relevancia radica en su elevada capacidad de desarrollar resistencia antimicrobiana (Kahsay et al., 2019; Sati et al., 2025).

La Resistencia Antimicrobiana (RAM) es una de las mayores amenazas de la salud pública, ya que limita las opciones terapéuticas disponibles y se asocia a un incremento en la mortalidad, morbilidad y costos sanitarios. En 2019, la RAM fue responsable directa de 1,27 millones de muertes y estuvo asociada indirectamente a casi 5 millones adicionales, afectando principalmente a países de ingresos bajos y medios (Murray, et al., 2022). En las Américas, estas diferencias se reflejaron en marcadas desigualdades en los sistemas de vigilancia, prevención y acceso a tratamientos eficaces (Robles Aguilar et al., 2023).

En Ecuador, la investigación sobre RAM es aún limitada, sin embargo, los sistemas de vigilancia reportaron un incremento progresivo de la resistencia a antimicrobianos críticos, particularmente a cefalosporinas de tercera generación y carbapenémicos. En hospitales de la ciudad de Cuenca, como el Vicente Corral Moscoso y el José Carrasco Arteaga, se han documentado prevalencias de infecciones intrahospitalarias entre 10 y 25 %, asociadas principalmente a patógenos multirresistentes. La posible diseminación de estos clones hospitalarios hacia la comunidad, a través de espacios de alto contacto como el transporte público, representa un riesgo epidemiológico relevante (Satán et al., 2023).

La literatura científica internacional ha confirmado que el transporte público desempeña un papel clave en la propagación de enfermedades infecciosas. Investigaciones de alcance global, como el proyecto MetaSUB (Metagenomics and Metadesign of the Subways and Urban Biomes) (Danko et al., 2021), han analizado el microbioma urbano en sistemas de transporte de 60 ciudades y han demostrado que las superficies de contacto frecuente contienen un resistoma, es decir, un conjunto de genes de resistencia antimicrobiana cuya composición depende de factores como la densidad poblacional y los patrones locales de uso de antibióticos. Otros estudios han evidenciado que microorganismos patógenos como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* pueden sobrevivir en pasamanos metálicos y asientos de plástico durante períodos que van desde varias horas hasta varias semanas, especialmente cuando forman biopelículas que les permiten resistir las condiciones ambientales adversas (Otter et al., 2013).

En el contexto regional, se ha documentado la presencia de contaminación fecal, así como de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en superficies inanimadas del entorno urbano. Estos hallazgos evidencian deficiencias en las prácticas de higiene e indican que estos espacios pueden facilitar la diseminación comunitaria de cepas bacterianas que anteriormente se asociaban casi exclusivamente a entornos hospitalarios (Hernández-Alomía et al., 2023).

En la ciudad de Cuenca no se disponen de estudios que evalúen la presencia de bacterias patógenas ni de sus perfiles de RAM en las superficies de los buses urbanos, lo que genera un vacío de información relevante para la vigilancia epidemiológica local.

Un aspecto adicional considerado fue el rol del personal de salud que utiliza diariamente el transporte público. Este grupo puede actuar como vector involuntario de bacterias resistentes, transportándolas desde el ámbito hospitalario hacia la comunidad y viceversa mediante manos, vestimenta u objetos personales. Esta dinámica reforzó la hipótesis de que el transporte urbano funciona como un puente epidemiológico bidireccional que favorece la circulación de patógenos resistentes entre distintos entornos (Abdulai et al., 2020; Chebon y Sonoiya, 2019).

En conjunto, la evidencia internacional y la ausencia de datos locales sugieren que el transporte público urbano de Cuenca, especialmente las rutas que conectan con centros hospitalarios, pueden estar actuando como un reservorio y vehículo clave para la diseminación comunitaria de bacterias patógenas multirresistentes. Esta situación representa un riesgo silencioso para la

salud pública, al favorecer la transmisión cruzada entre usuarios, pacientes ambulatorios y personal sanitario.

## **1.2.Preguntas de investigación, hipótesis, o idea a defender**

### **Hipótesis**

Las superficies de las unidades de transporte público urbano que conectan con el Hospital José Carrasco Arteaga presentan una prevalencia significativa de bacterias patógenas (*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y Enterobacteriaceae), con perfiles de resistencia antimicrobiana clínicamente relevantes (SARM, BLEE y carbapenemasas), cuya frecuencia varía según el tipo de superficie y el horario de muestreo.

### **Preguntas de investigación**

- ¿Qué bacterias patógenas están presentes en las superficies de las unidades de transporte público urbano que conectan con el Hospital José Carrasco Arteaga de la ciudad de Cuenca?
- ¿Cuáles son los perfiles de resistencia antimicrobiana de las bacterias aisladas en dichas superficies?

## **1.3. Objetivos de investigación**

### *1.3.1. Objetivo General*

Caracterizar a las bacterias patógenas en superficies de las unidades de transporte público urbano que conectan directamente con el Hospital José Carrasco Arteaga en la ciudad de Cuenca, Ecuador.

### *1.3.2. Objetivos Específicos*

- Identificar bioquímicamente las cepas de *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y Enterobacteriaceae presentes en las superficies muestreadas.

- Determinar los perfiles de resistencia antimicrobiana de las cepas identificadas mediante pruebas de sensibilidad, para la detección de SARM, BLEE y carbapenemasas.
- Evaluar la asociación entre la presencia de bacterias patógenas identificadas y variables como el tipo de superficie, el horario de muestreo y el día de la semana, a fin de identificar posibles factores asociados a su distribución.

#### **1.4. Justificación**

Por lo expuesto anteriormente, se plantea la necesidad de realizar un estudio que permita detectar la presencia de bacterias patógenas de importancia clínica, específicamente *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Enterobacteriaceae*, en estas superficies y caracterizar sus patrones de resistencia antimicrobiana, aportando evidencia científica para la vigilancia epidemiológica y el diseño de medidas de bioseguridad en el transporte urbano de la ciudad de Cuenca.

La utilidad de este estudio radica en que permitirá generar evidencia científica clave para comprender el papel del transporte público como posible fuente de transmisión de microorganismos patógenos en entornos urbanos de alta concurrencia.

Desde una perspectiva social y sanitaria, el estudio presenta un impacto potencial directo en la salud de los usuarios del transporte público, del personal de salud y de los pacientes ambulatorios. La identificación de fuentes de contaminación bacteriana permite fundamentar estrategias orientadas a reducir la transmisión de patógenos y a minimizar la diseminación comunitaria de bacterias multirresistentes, protegiendo especialmente a los grupos poblacionales más vulnerables. Además, el estudio fortalece la vigilancia epidemiológica ambiental, componente clave en la lucha contra la RAM a nivel nacional (Organización Mundial de la Salud, 2023).

La investigación se alinea con el Objetivo de Desarrollo Sostenible 3 (Salud y Bienestar) de la Agenda 2030, al contribuir al fortalecimiento de las capacidades locales para enfrentar amenazas emergentes para la salud pública, como la RAM. Además, se articula con los ejes de Salud y bienestar, Ambiente sano y Ciencia e innovación del Plan Nacional de Desarrollo del Ecuador 2021–2025 (Naciones Unidas, 2015).

## CAPÍTULO II

### FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

#### 2.1. Antecedentes

El desarrollo de RAM a los antimicrobianos se ha documentado desde la introducción masiva de los antibióticos a mediados del siglo XX. Los principales mecanismos de resistencia identificados incluyen mutaciones en dianas moleculares, sistemas de bombas de eflujo y la producción de enzimas inactivadoras. El uso extendido de estos fármacos en campo de la salud humana, veterinaria y la agricultura ha ejercido una intensa presión selectiva, lo que ha aumentado la aparición y propagación de cepas multirresistentes. Los análisis históricos modernos destacan la aparición de resistencias poco después de la introducción clínica de cada antimicrobiano, lo que ha llevado a la actual crisis de RAM, que resalta la urgencia de adoptar enfoques integrales como el de “Una Sola Salud” (One Health, en inglés) para abordar el problema (Davies y Davies, 2010; Hunt y Kates, 2024).

A nivel mundial, la RAM es reconocida como una de las amenazas más graves para la salud pública. Estimaciones recientes le atribuyen más de un millón de muertes anuales directas, y proyecciones preocupantes ante la ausencia de intervenciones efectivas. En América Latina y el Caribe, se han establecido sistemas de vigilancia como la RED ReLAVRA+ (Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos), sin embargo aún existen grandes desafíos, como capacidades de diagnóstico limitadas, el consumo indiscriminado de antibióticos y una marcada variabilidad en la prevalencia de patógenos resistentes entre diferentes regiones (OPS y OMS, 2023; Tang et al., 2023).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) publican periódicamente informes que detallan el impacto clínico, epidemiológico y económico de la RAM. Estos documentos, que incluyen las listas de patógenos prioritarios y análisis de amenazas, conforman fuentes de referencia para estadísticas y directrices de política pública para guiar la respuesta mundial (CDC, 2025a; OMS, 2023; OPS y OMS, 2023).

En la cadena de transmisión de infecciones, las superficies inanimadas o fómites, actúan como reservorios temporales que facilitan la diseminación de patógenos tanto en entornos hospitalarios como comunitarios. La evidencia científica ha demostrado que las bacterias y

virus pueden sobrevivir desde horas hasta días en diversas superficies, y su potencial de transmisión depende de factores como la frecuencia de contacto y la carga microbiana. La contaminación de superficies con bacterias multirresistentes, como *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina o enterobacterias productoras de BLEE, convierte a los fómites en un punto crítico para estrategias de prevención y control (Boone y Gerba, 2007; Kramer et al., 2024; Stephens et al., 2019).

A nivel mundial, diversas investigaciones han utilizado secuenciación de ADN de alto rendimiento para describir el metagenoma de la microbiota presente en los sistemas de transporte masivo. El estudio en el metro de Nueva York, conocido como PathoMap, reveló una huella microbiana única en cada estación, identificando no solo comunidades comensales, sino también la presencia de patógenos oportunistas y genes de resistencia a los antimicrobianos (Afshinnekoo et al., 2015). Este enfoque fue replicado en otras megaciudades como Hong Kong (Leung et al., 2014) y Boston (Hsu et al., 2016), confirmando que el transporte público funciona como un ecosistema microbiano complejo. Un esfuerzo global del consorcio MetaSUB, que analizó 60 ciudades, demostró que la presencia de genes de resistencia es un fenómeno universal en estos entornos, aunque cada ciudad mantiene una firma microbiana distintiva que refleja sus particularidades ambientales, demográficas y sanitarias (Danko et al., 2021).

En América Latina, aunque en menor número, también existen estudios que caracterizan el microbioma y perfiles de RAM en el transporte público. En Ciudad de México, varios trabajos han caracterizado las interacciones entre las bacterias presentes en superficies del metro mediante secuenciación del gen 16S rRNA, identificando perfiles microbiológicos asociados tanto a fuentes humanas como ambientales en barandillas y pasamanos (Hernández et al., 2020).

Es importante destacar que el estudio metagenómico global del consorcio MetaSUB incluyó varias ciudades latinoamericanas como São Paulo, Río de Janeiro y Santiago de Chile, donde se identificaron perfiles de resistencia a antimicrobianos que variaron considerablemente entre ciudades y fueron especialmente abundantes en algunas urbes de la región (Danko et al., 2021).

Un estudio reciente realizado por Hernández-Alomía et al. (2023) en Quito utilizó técnicas moleculares (PCR) para analizar superficies de autobuses. Sus resultados revelaron la presencia de genes de  $\beta$ -lactamasa, los cuales confieren resistencia a un amplio espectro de antibióticos.

A nivel local, en Cuenca, las investigaciones microbiológicas publicadas se han enfocado principalmente en el ámbito clínico. Existen publicaciones sobre la prevalencia de  $\beta$ -lactamasas en urocultivos de pacientes del Hospital Vicente Corral Moscoso o trabajos académicos de diferentes universidades enfocados en perfiles microbianos intrahospitalarios en el hospital José Carrasco Artigada (Espinoza et al., 2021; Sánchez et al., 2024). La literatura sobre contaminación bacteriana y RAM en el sistema de transporte público de la ciudad es prácticamente inexistente.

## 2.2. Marco teórico

### 2.2.1. Composición de la microbiota ambiental

Se denomina microbiota ambiental al conjunto de microorganismos (bacterias, hongos y virus), que habitan en entornos no biológicos, como superficies, aire y agua. En espacios públicos, esta microbiota se conforma de microorganismos derivados de la piel, las mucosas y las secreciones de los usuarios. Está integrada tanto por microorganismos comensales inofensivos, así como por patógenos potenciales, cuya capacidad de causar infección depende de la dosis infectante y del estado inmunitario del huésped susceptible (Joseph et al., 2025; Wißmann et al., 2021).

Los géneros bacterianos relevantes en superficie del transporte público son las siguientes:

- *Staphylococcus spp.*: Los organismos de este género son predominantes en la piel humana. Dentro de este grupo se encuentran especies comensales como *S. epidermidis* y patógenas como *Staphylococcus aureus*. Esta bacteria es capaz de colonizar y provocar una amplia gama de enfermedades infecciosas tanto en humanos como en animales, siendo una de las principales causas de infección. Un marcador crítico de la contaminación por RAM de origen comunitario es la presencia de *Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina (SARM) (Idrees et al., 2021).
- Enterobacterales, especialmente *Escherichia spp.*, y *Klebsiella spp.*: generalmente señala una contaminación de origen fecal o proveniente de las mucosas intestinales. Estos organismos son de gran importancia porque actúan como reservorios primarios de genes de resistencia, tales como las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE). Son bacterias gramnegativas y anaerobias facultativas, incluye numerosas bacterias inofensivas, así como muchos patógenos entéricos conocidos, como *Salmonella*,

*Shigella, Escherichia coli, Yersinia pestis, Klebsiella, Proteus, Serratia y Citrobacter* (Bujňáková et al., 2022).

- *Pseudomonas spp.*: Son típicas de hábitats como el suelo y ambientes húmedos. Se les considera patógenos oportunistas que presentan una resistencia intrínseca a múltiples antibióticos y desinfectantes. *P. aeruginosa* se encuentra habitualmente en el suelo, agua y plantas. En el entorno hospitalario, se aísla con frecuencia de equipos como respiradores y humidificadores, así como en vertederos, duchas, piscinas de hidroterapia, e incluso pueden encontrarse en las manos del personal sanitario. Es responsable de una amplia variedad de infecciones nosocomiales, principalmente en pacientes inmunosuprimidos (Roca y Ángel, 2014).
- *Acinetobacter baumannii*: Es un cocobacilo gramnegativo, no flagelado y ubicuo que se aísla comúnmente del medio ambiente. En la práctica médica, este patógeno oportunista causa infecciones tanto intrahospitalarias como extrahospitalarias. Son patógenos nosocomiales preocupantes debido a la resistencia a antibióticos de último recurso como carbapenémicos, tigeciclina y colistina (Whiteway et al., 2022).

### **2.2.2. Fómites en la transmisión de enfermedades**

Los fómites son definidos como objetos o superficies inanimadas capaces de albergar y transmitir agentes infecciosos, siendo un vehículo para la transmisión indirecta de enfermedades. Su eficacia como vector depende de factores como la carga microbiana inicial, la capacidad de supervivencia del microorganismo, la frecuencia de contacto humano y los hábitos de higiene. La permanencia microbiana en fómites es variable, por ejemplo, los patógenos sobreviven más tiempo en materiales no porosos como acero inoxidable o plástico, en comparación con superficies porosas como los textiles. Esta duración también está condicionada a factores ambientales como la humedad, la temperatura y la exposición a radiación UV (Wißmann et al., 2021).

El proceso de transmisión a través de un fómite ocurre en tres etapas:

- **Contaminación:** Un individuo infectado o colonizado deposita el patógeno sobre la superficie mediante contacto, gotas respiratorias o material fecal.

- **Sobrevivencia:** El microorganismo debe permanecer viable y con capacidad infecciosa en el fómite.
- **Transferencia:** Un nuevo individuo toca la superficie contaminada y, posteriormente, realiza una auto-inoculación al tocar sus mucosas (ojos, nariz, boca) (Broadwater et al., 2022).

El riesgo efectivo de infección por fómites es específico para cada patógeno. Por ejemplo, un estudio durante la pandemia de COVID-19 reveló que, la transmisión del SARS-CoV-2 a través de superficies tenía baja importancia epidemiológica comparada con la transmisión por vía aérea. Sin embargo, para las bacterias sigue siendo una ruta de alta importancia, sobre todo las superficies de alto contacto como agarraderas, pasamanos y botones, representan reservorios transitorios que facilitan su dispersión entre la población (CDC, 2020; Wißmann et al., 2021).

### 2.2.3. *Resistencia Antimicrobiana (RAM)*

La resistencia a los agentes antibacterianos permite que los microorganismos sobrevivan y crezcan en presencia de antimicrobianos que, en condiciones normales, deberían inhibirlos. Podemos destacar tres categorías principales según su origen y desarrollo: intrínseca (o natural), adquirida y adaptativa:

- **Resistencia intrínseca (natural):** Es una característica inherente y universal de una especie bacteriana, presente independientemente de la exposición previa al antibiótico o de la transferencia genética horizontal. Esta resistencia se debe a las características estructurales propias de la bacteria, lo que hace que el tratamiento con ciertos antibacterianos sea ineficaz desde el inicio (Belay et al., 2024).
- **Resistencia adquirida:** Ocurre cuando una bacteria, previamente susceptible a un antibiótico, desarrolla resistencia. Esta forma de resistencia surge de mutaciones, cambios espontáneos en el cromosoma bacteriano que alteran la permeabilidad o los objetivos del fármaco, o de adquisición de material genético nuevo por transferencia horizontal de elementos extracromosómicos (como plásmidos, transposones o integrones) desde otras bacterias (Belay et al., 2024).
- **Resistencia adaptativa:** Se caracteriza por ser temporal y reversible. Es la capacidad de un microorganismo de volverse resistente a uno o más antibióticos en respuesta a señales ambientales específicas (como el estrés, pH, condiciones nutricionales o la exposición a concentraciones subinhibitorias del antibiótico), una vez que la señal

inductora desaparece, la bacteria generalmente recupera su susceptibilidad original (Belay et al., 2024).

#### **2.2.4. Mecanismos de Resistencia Antimicrobiana**

Existen cuatro mecanismos fundamentales que permiten a las bacterias sobrevivir en presencia de antibacteriano. Las bacterias Gram-positivas tienden a limitar menos la captación de fármacos debido a la ausencia de la membrana externa con lipopolisacáridos (LPS). Las bacterias Gram-negativas pueden emplear los cuatro mecanismos principales, siendo el uso de su membrana externa y las porinas un mecanismo vital para la restricción de la captación (Belay et al., 2024).

1. **Modificación o alteración del objetivo del fármaco:** Este mecanismo implica mutar, modificar o proteger la diana celular del antibacteriano, impidiendo así que el fármaco se una eficazmente y reduciendo su potencia. Las bacterias pueden: a) alterar las dianas del fármaco mediante mutaciones espontáneas o modificaciones enzimáticas (metilación), b) eludir el efecto del antibiótico sustituyendo la diana original por una molécula o vía alternativa que realiza la misma función, pero con baja afinidad por el fármaco y c) producir moléculas que protegen la diana del fármaco, bloqueando su acceso (Belay et al., 2024).
2. **Disminución de la permeabilidad:** La reducción de la permeabilidad de la pared o la membrana evita que el antibiótico alcance su objetivo en concentraciones suficientes. La pérdida, reducción o mutación en la expresión de estas porinas es un mecanismo común de resistencia adquirida, especialmente en patógenos como *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* (Gajic et al., 2022).
3. **Aumento de la expresión de bombas de eflujo:** Son complejos sistemas de transporte dependientes de energía que expulsan activamente antibióticos de la célula, reduciendo su concentración intracelular por debajo de los niveles terapéuticos, a menudo transportan una amplia gama de sustratos no relacionados, lo que contribuye significativamente a la resistencia a múltiples fármacos (Gajic et al., 2022).
4. **Inactivación enzimática:** las bacterias producen enzimas que descomponen o alteran químicamente la estructura del antibacteriano, volviéndolo ineficaz. Las tres clases de enzimas inactivadoras principales son:
  - **β-Lactamasas:** Hidrolizan el anillo β-lactámico (penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos), el sitio de acción del fármaco, inactivándolo. Las β-

Lactamasas de Espectro Extendido (BLEE) hidrolizan penicilinas y cefalosporinas de tercera generación. Las carbapenemasas son enzimas que confieren resistencia a los carbapenémicos.

- **Enzimas modificadoras de aminoglucósidos:** Pueden acetilar, fosforilar o adenilar los antibióticos aminoglucósidos, inactivándolos
- **Cloranfenicol acetiltransferasas:** Acetilan el cloranfenicol, inactivándolo (Gajic et al., 2022).

Para estandarizar la vigilancia y la comunicación clínica, el perfil de resistencia bacteriana se clasifica según los criterios internacionales del ECDC y el CDC. Un aislamiento se define como:

- Multirresistente (MDR): si presenta resistencia a al menos un agente en tres o más categorías antimicrobianas diferentes.
- Extensivamente resistente (XDR): si es sensible a solo uno o dos agentes de todas las categorías probadas.
- Panresistente (PDR): si muestra resistencia a todos los agentes en todas las categorías farmacológicas evaluadas (Cosentino et al., 2023).

El uso intensivo de antimicrobianos ejerce una fuerte presión selectiva. Grupos como los  $\beta$ -lactámicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos), las fluoroquinolonas (ciprofloxacino) y los glicopéptidos (vancomicina) son esenciales en el tratamiento de infecciones, por lo que la pérdida de eficacia de estos fármacos limita drásticamente las opciones terapéuticas, lo que recalca la necesidad de una vigilancia continua de los patrones de susceptibilidad para un tratamiento eficaz (Gajic et al., 2022).

### ***2.2.5. El transporte público como potencial reservorio de microorganismos***

El transporte público es un entorno favorable para la acumulación y diseminación de microorganismos debido a la alta afluencia de usuarios, el contacto constante con superficies comunes y la mezcla de individuos con distintos tipos de colonización o infección, además de la posible falta de los protocolos de limpieza. Estas características lo convierten en un puente epidemiológico que puede conectar áreas comunitarias con entornos clínicos, facilitando la transferencia de microorganismos. El grado de contaminación de las unidades de transporte depende de la frecuencia y eficacia de la limpieza, materiales de las superficies y condiciones ambientales. La evidencia científica basada en el análisis del microbioma en estos entornos,

confirma una gran diversidad microbiana, así como también presencia de genes de resistencia, justificando la implementación de estrategias de vigilancia y control (Joseph et al., 2025; Wißmann et al., 2021).

### ***2.2.6. Técnicas microbiológicas***

La recolección de muestras de superficies es crucial y depende de los objetivos del estudio. El muestreo por hisopado es un método versátil, ideal para superficies irregulares. Para áreas planas y lisas, se emplean placas de contacto que permiten una estimación semicuantitativa rápida. El muestreo con esponjas o toallas es apropiado para analizar áreas extensas o visiblemente sucias, permite recolectar un mayor volumen de muestra, aumentando la sensibilidad de la detección. La elección final del método debe considerar el tipo de análisis (cualitativo o cuantitativo), y debe adaptarse al tipo de material muestreado (Griffith, 2016).

El aislamiento e identificación de bacterias se realiza mediante cultivo microbiológico, para el cual se emplean medios no selectivos, como el agar sangre o agar nutritivo para un crecimiento general, y medios selectivos o diferenciales, como el agar MacConkey o Manitol salado, para aislar grupos específicos de interés. La identificación final de los microorganismos puede lograrse con pruebas bioquímicas tradicionales que analizan el perfil metabólico, sistemas automatizados como VITEK, o confirmarse mediante técnicas moleculares como la PCR, que además permiten la detección directa de genes específicos de resistencia (Griffith, 2016).

El estándar de oro para determinar el perfil de resistencia es el Test de Susceptibilidad por Difusión en Disco (Kirby-Bauer). El antibiótico es impregnado en un disco de papel que se coloca sobre una placa de agar inoculada uniformemente con la bacteria. Se mide el halo de inhibición (zona donde la bacteria no crece). Los resultados se interpretan comparando el diámetro del halo con los puntos de corte estandarizados establecidos por organismos internacionales como el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) o el European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). La interpretación clasifica la bacteria como Sensible (S), Intermedio (I) o Resistente (R) a cada antibiótico probado. Es fundamental un control de calidad riguroso para garantizar la validez y comparabilidad de los perfiles de resistencia reportados (Gajic et al., 2022).

## **CAPÍTULO III**

### **METODOLOGÍA**

#### **3.1. Descripción del área de estudio/Grupo de estudio**

El estudio se realizó en unidades de transporte público urbano que circulan en la ciudad de Cuenca, Ecuador. La selección se centró en una ruta con elevada afluencia de pasajeros y ubicación estratégica, con una parada a menos de 200 metros del Hospital de Especialidades José Carrasco Arteaga. Esta proximidad permitió investigar el papel del transporte público como un punto crítico de contacto y potencial dispersión de bacterias con perfiles de resistencia antimicrobiana de importancia clínica, considerando el flujo constante de usuarios entre el entorno hospitalario y el comunitario.

La frecuencia y estrategia de muestreo se basaron en una adaptación del protocolo propuesto por Sultan et al. (2025).

##### ***3.1.1. Población y muestra***

La población estuvo constituida por las unidades de transporte público urbano que operan en el sector del Hospital José Carrasco Arteaga.

Para la toma de muestra, se seleccionaron ocho unidades de transporte mediante un muestreo aleatorio simple. El criterio de inclusión fue que las unidades se encontraran en operación regular durante las franjas horarias establecidas, considerando los períodos de mayor afluencia de pasajeros en la mañana y en la tarde. Este método garantizó que cada unidad circulante tuviera la misma probabilidad de ser incluida en el estudio, eliminando la selección subjetiva del investigador (Cochran, 1977; Sultan et al., 2025).

En cada bus se obtuvo una muestra compuesta representativa. Se define como muestra compuesta a la integración de varios hisopados de una misma superficie en un único medio de transporte (agua peptonada).

En cada unidad se realizaron:

- Cuatro hisopados de pasamanos metálicos (ubicados en diferentes zonas del bus: entrada, medio y salida).
- Cuatro hisopados de agarraderas plásticas de asientos aleatorios.

Para la fase de muestreo, se agruparon cuatro hisopos de metal en un tubo y cuatro de plástico en otro, conformando muestras compuestas. Esta cantidad (n=4 por tipo de superficie) se seleccionó para maximizar la probabilidad de recuperación de patógenos en superficies de extensión amplia, siguiendo las recomendaciones de Griffith, (2016). Si bien el número de hisopos por unidad parece reducido frente a la capacidad total de un vehículo, la representatividad se logra mediante la técnica de muestreo compuesto, que consolida la carga biológica de múltiples puntos críticos de contacto en una sola determinación analítica, optimizando así la sensibilidad de detección.

La recolección se extendió durante cinco semanas, con una frecuencia de un día por semana en dos horarios diarios, lo que permitió obtener un total de 160 muestras compuestas a lo largo del período de estudio. El tamaño muestral se definió por conveniencia operativa y repetibilidad temporal, priorizando la cobertura de diferentes momentos de exposición y flujo de pasajeros.

### **3.2. Enfoque y tipo de investigación**

La investigación fue de tipo experimental-descriptiva, con un diseño observacional y transversal. El enfoque fue cuantitativo, orientado a determinar la prevalencia de bacterias patógenas y caracterizar sus perfiles de resistencia antimicrobiana en superficies del transporte público urbano mediante análisis microbiológicos controlados en laboratorio.

### **3.3. Definición y operacionalización de variables**

#### **3.3.1. Variable dependiente:**

- Prevalencia de bacterias patógenas: porcentaje de muestras positivas por especie bacteriana de interés.
- Perfil de resistencia antimicrobiana (RAM): porcentaje de resistencia por antibiótico (S/I/R), detección de patrones críticos (BLEE, SARM, Carbapenemasas).

### 3.3.2. *Variable independiente:*

- Tipo de superficie: la naturaleza física del material muestreado, superficies no porosas (pasamanos de metal) y porosas (agarraderas de asientos de plástico).
- Horario de muestreo: el muestreo se ejecutó siguiendo un cronograma de alta exposición, recolectando muestras en los períodos de mayor afluencia, de 07:00 a 09:00 (pico matutino) y de 17:00 a 19:00 (pico vespertino).
- Día de la semana: La recolección se llevó a cabo de lunes a viernes, cubriendo la totalidad de la semana laboral para captar la variabilidad en el flujo de usuarios.

**Tabla 1**

*Operacionalización de variables*

<b>Variable</b>	<b>Tipo</b>	<b>Indicador / Escala de medición</b>	<b>Instrumento de Medición</b>
Prevalencia de bacterias patógenas	Dependiente Cualitativa Nominal	% de muestras positivas por especie bacteriana de interés.	Cultivo microbiológico por siembra en superficie (Sultan et al., 2025). Identificación por pruebas bioquímicas (Rojas Triviño, 2011).
Perfil de RAM	Dependiente Cualitativa Nominal	% de resistencia por antibiótico (S/I/R), detección de patrones críticos (BLEE, SARM, Carbapenemasas).	Test de Susceptibilidad por Difusión en Disco (Kirby-Bauer). Interpretación CLSI. (CLSI, 2023).
Tipo de superficie	Independiente Cualitativa Nominal	Superficies no porosas (pasamanos de metal). Superficies porosas (agarraderas de asientos de plástico).	Ficha de Recolección de Datos (Registro).
Horario de muestreo	Independiente	Matutino (07:00–09:00). Vespertino (17:00–19:00).	Ficha de Recolección de Datos (Registro).

		Cualitativa			
		Nominal			
Día de muestreo	Independiente	Cualitativa	Lunes, martes, miércoles, jueves, viernes.		Ficha de Recolección de Datos (Registro).
		Nominal			

---

### 3.4. Procedimientos

La metodología se estructuró en cuatro fases secuenciales, diseñadas para cumplir los objetivos de la investigación.

#### 3.4.1. Fase I: Muestreo en las unidades de transporte

La unidad experimental fue el bus completo. Para obtener datos representativos del estado microbiológico de cada unidad, se recolectaron muestras compuestas de superficies de alto contacto, agrupadas según la naturaleza de su material (metal y plástico). La frecuencia de muestreo se diseñó para capturar la variabilidad temporal, realizando las colectas durante cinco semanas consecutivas, rotando el día de la semana en cada período para evaluar posibles diferencias significativas entre los días laborales.

La selección de las unidades se realizó mediante un muestreo aleatorio simple de los buses que circulaban en las franjas horarias de alta afluencia: matutina (06:30–08:00) y vespertina (16:30–18:00). Este enfoque permitió asegurar que los hallazgos reflejen la carga microbiana asociada al uso intensivo de las unidades en una ruta estratégica por su proximidad al Hospital de Especialidades José Carrasco Arteaga.

La recolección se efectuó mediante un protocolo de hisopado húmedo adaptado de Sultan et al. (2025). Para cada muestra compuesta, se procedió de la siguiente manera:

- Superficies metálicas (Pasamanos): Se delimitaron áreas de aproximadamente  $2 \times 4$  cm en cuatro puntos distintos del bus. Se utilizó un hisopo de algodón estéril humedecido en agua peptonada, frotando la superficie mediante movimientos en zigzag horizontales y verticales mientras se rotaba el hisopo sobre su propio eje. Los cuatro hisopos se agruparon en un único tubo con 1 mL de agua peptonada tamponada estéril para conformar la muestra compuesta.
- Superficies plásticas (Agarraderas): Se repitió el procedimiento anterior en cuatro agarraderas de asientos distribuidas aleatoriamente en la unidad, agrupando igualmente los hisopos en un tubo independiente.

En cada jornada de muestreo se incluyó un blanco de proceso como control de esterilidad y calidad. Este consistió en un hisopo introducido directamente en el diluyente (agua peptonada) sin exposición al ambiente ni contacto con la superficie, con el fin de verificar la ausencia de contaminación intrínseca en los reactivos y materiales (Hurst et al., 2007; Sultan et al., 2025).

Las muestras fueron rotuladas y transportadas inmediatamente en cadena de frío (entre 4°C y 8°C) al laboratorio de microbiología, garantizando un tiempo de traslado inferior a dos horas. Una vez en las instalaciones, las muestras fueron sembradas de inmediato en los medios de cultivo primarios, omitiendo cualquier periodo de refrigeración prolongada para asegurar la máxima viabilidad de los patógenos aislados y evitar sesgos en la recuperación bacteriana.

Este diseño permitió obtener un total de 160 muestras compuestas, orientadas a la detección de presencia bacteriana y la caracterización de perfiles de RAM.

### **3.4.2. Fase II: Aislamiento e Identificación Bioquímica de Patógenos**

Una vez recibidas en el laboratorio, las muestras compuestas fueron homogenizadas y se procedió a la siembra en superficie de 100 µL de cada suspensión en Agar MacConkey y Agar Sangre. Los medios fueron incubados en condiciones de aerobiosis a  $35 \pm 2$  °C durante un periodo de 24 a 48 horas.

Se seleccionaron colonias con morfología sugestiva a patógenos de importancia epidemiológica, tales como:

- En Agar MacConkey: colonias fermentadoras de lactosa (rosadas/fucsias) sugestivas de *E. coli* o *Klebsiella spp.* y colonias no fermentadoras sugestivas de *Pseudomonas spp.* o *Acinetobacter spp.*
- En Agar Sangre: colonias con diferentes patrones de hemólisis (alfa, beta o gamma) y morfologías compatibles con el género *Staphylococcus spp.*

Las colonias seleccionadas fueron subcultivadas para obtener cultivos puros antes de las pruebas de identificación.

La identificación de los aislamientos se realizó mediante la evaluación de características macroscópicas (forma, elevación, borde y color de la colonia) y microscópicas a través de la

tinción de Gram. Posteriormente, se ejecutaron pruebas bioquímicas convencionales siguiendo los protocolos de identificación de microorganismos clínicos (Rojas Triviño, 2011):

- Para Gram positivos: Pruebas de catalasa, coagulasa y manitol salado (para diferenciar *S. aureus* de estafilococos coagulasa negativos).
- Para Gram negativos: Oxidasa y una batería bioquímica que incluyó TSI (Triple Sugar Iron), Citrato de Simmons, LIA (Lysine Iron Agar) y MIO (Motility Indole Ornithine).

Los resultados de la identificación y las características fenotípicas de cada aislamiento fueron registrados sistemáticamente en fichas de control para su posterior análisis estadístico (Anexo B).

### **3.4.3. Fase III: Determinación de Perfiles de Resistencia Antimicrobiana (RAM)**

La susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos confirmados se evaluó mediante el método de difusión en disco (Kirby-Bauer), siguiendo los protocolos y puntos de corte interpretativos del Clinical and Laboratory Standards Institute (2023).

Detección de mecanismos críticos:

- *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM): Se determinó mediante el disco de cefoxitina (30 µg), utilizando como criterio un halo de inhibición  $\leq 21$  mm para reportar resistencia.
- Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE): Se realizó la prueba de confirmación fenotípica mediante la técnica de disco combinado o aproximación de discos (sinergia), utilizando discos de cefotaxima (30 µg) y ceftazidima (30 µg) solos y en combinación con ácido clavulánico (10 µg).
- Resistencia a Carbapenémicos: Se evaluó mediante la susceptibilidad a imipenem (10 µg) y meropenem (10 µg). En caso de halos reducidos, se consideró la realización de la prueba de inactivación del carbapenem (mCIM).

Para el control de calidad y validación de los halos de inhibición, se utilizaron las cepas de referencia *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 25923. Los resultados del antibiograma de cada aislamiento fueron registrados sistemáticamente en fichas para su posterior análisis estadístico (Anexo C).

#### ***3.4.4. Fase IV: Análisis e Interpretación Estadística de Datos***

Los datos fueron tabulados en Microsoft Excel y procesados mediante el software estadístico R Studio (versión 2023.06.0). Se aplicó estadística descriptiva para calcular frecuencias absolutas, porcentajes y sus respectivos intervalos de confianza al 95%.

Para determinar la existencia de asociaciones significativas entre las variables independientes (tipo de superficie, horario y día) y la presencia bacteriana o perfiles de resistencia, se empleó la prueba de Chi-cuadrado de Pearson o la Prueba Exacta de Fisher cuando las frecuencias esperadas fueron menores a 5.

Se consideró un nivel de significancia de  $p < 0,05$ . Se contempló el uso de la corrección de Bonferroni como ajuste post-hoc para comparaciones múltiples en tablas de contingencia mayores a 2x2, que muestren asociaciones estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) entre las variables analizadas (Paulson, 2009).

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Resultados

##### 4.1.1. Prevalencia de bacterias patógenas según superficie, horario y día

De las 160 muestras analizadas en las unidades de transporte, se obtuvo un porcentaje de positividad general del 56.25% (n=90), lo que refleja una presencia considerable de contaminación bacteriana en las superficies de contacto. El 43.75% restante (n=70) no presentó crecimiento bacteriano bajo las condiciones de cultivo empleadas.

Como se observa en la Tabla 2, la prevalencia de bacterias patógenas fue ligeramente superior en las superficies de plástico (60.0%) en comparación con las de metal (52.5%), el análisis estadístico no mostró una asociación significativa ( $p = 0.426$ ), lo que indica que las variaciones observadas pueden deberse a una fluctuación aleatoria más que a un efecto intrínseco del material. Este hallazgo sugiere que, en las condiciones operativas de los autobuses, ambos tipos de superficie tienen un potencial similar para albergar contaminación bacteriana.

**Tabla 2**

*Prevalencia de bacterias patógenas según el tipo de superficie*

Tipo de Superficie	Positivas (n)	Negativas (n)	Total (N)	% Positividad	IC 95%
Metal	42	38	80	52.5	41.7–63.1
Plástico	48	32	80	60.0	49.0–70.0

$p = 0.426$  (Chi cuadrado de Pearson)

Respecto al horario de muestreo detallado en la Tabla 3, los resultados muestran una distribución idéntica de la positividad entre la mañana (55.0%) y la tarde (57.5%), con un valor  $p = 0.873$ , que indica la ausencia de una diferencia significativa y que la carga bacteriana es independiente del horario de operación.

**Tabla 3***Prevalencia de bacterias patógenas según el horario de muestreo*

<b>Horario</b>	<b>Positivas (n)</b>	<b>Negativas (n)</b>	<b>Total (N)</b>	<b>% Positividad</b>	<b>IC 95%</b>
Mañana	44	36	80	55.0	44.1–65.4
Tarde	46	34	80	57.5	46.6–67.7

p = 0.873 (Chi cuadrado de Pearson)

Al analizar la Tabla 4, se evidencia que la positividad varía según el día de la semana. El jueves fue el día de mayor riesgo microbiológico (75.0%), mientras que el viernes registró la menor prevalencia (40.6%). Aunque la prueba de Fisher arrojó un valor p = 0.06, que no es significativo al nivel estándar del 0.05, la cercanía a este umbral sugiere una tendencia de acumulación de carga bacteriana hacia mediados de la semana que amerita atención preventiva.

**Tabla 4***Prevalencia de bacterias patógenas según el día de la semana*

<b>Día</b>	<b>Positivas (n)</b>	<b>Negativas (n)</b>	<b>Total (N)</b>	<b>% Positividad</b>	<b>IC 95%</b>
Lunes	20	12	32	62.5	45.3–77.1
Martes	16	16	32	50.0	33.6–66.4
Miércoles	17	15	32	53.1	36.4–69.1
Jueves	24	8	32	75.0	57.9–86.7
Viernes	13	19	32	40.6	25.5–57.7

p = 0.06 (Prueba Exacta de Fisher con extensión R x C para comparaciones múltiples)

#### **4.1.2. Distribución de especies bacterianas aisladas**

En la Tabla 5 se observa la distribución taxonómica de los 90 aislamientos según el material. *Escherichia coli* fue la especie prevalente tanto en metal (52.4%) como en plástico (54.2%), le siguió en frecuencia *Staphylococcus aureus*, con una presencia ligeramente superior en plástico (22.9%) frente al metal (19.0%). No se halló una asociación estadísticamente significativa entre el tipo de microorganismo y la superficie (p = 0.72), lo que indica que el material de los buses no ejerce un efecto selectivo sobre la distribución de las especies bacterianas identificadas.

**Tabla 5***Distribución de especies bacterianas aisladas según el tipo de superficie*

<b>Microorganismo</b>	<b>Metal n (%)</b>	<b>Plástico n (%)</b>	<b>Total n (%)</b>
<i>E. coli</i>	22 (52.4)	26 (54.2)	48 (53.3)
<i>S. aureus</i>	8 (19.0)	11 (22.9)	19 (21.1)
<i>K. pneumoniae</i>	7 (16.7)	6 (12.5)	13 (14.4)
<i>Pseudomonas spp.</i>	4 (9.5)	2 (4.2)	6 (6.7)
Otros	1 (2.4)	3 (6.2)	4 (4.4)
<i>A. baumannii</i>	0 (0.0)	0 (0)	0 (0)

p = 0.72 (Prueba Exacta de Fisher con extensión R x C para comparaciones múltiples)

Respecto al horario, la Tabla 6 muestra que *E. coli* tuvo una mayor representación porcentual en el turno de la tarde (63.0%) en comparación con la mañana (43.2%). Por el contrario, especies como *Pseudomonas spp.* fueron más frecuentes en la mañana (11.4%) que en la tarde (2.2%). A pesar de estas variaciones numéricas, la prueba Exacta de Fisher (p = 0.256) confirma que la jerarquía de especies se mantiene estable en ambos turnos, sugiriendo una contaminación constante por la actividad del usuario.

**Tabla 6***Distribución de especies bacterianas aisladas según el horario de muestreo*

<b>Microorganismo</b>	<b>Mañana n (%)</b>	<b>Tarde n (%)</b>	<b>Total n (%)</b>
<i>E. coli</i>	19 (43.2)	29 (63.0)	48 (53.3)
<i>S. aureus</i>	10 (22.7)	9 (19.6)	19 (21.1)
<i>K. pneumoniae</i>	8 (18.2)	5 (10.9)	13 (14.4)
<i>Pseudomonas spp.</i>	5 (11.4)	1 (2.2)	6 (6.7)
Otros	2 (4.5)	2 (4.3)	4 (4.4)

p = 0.256 (Prueba Exacta de Fisher con extensión R x C para comparaciones múltiples)

La Tabla 7 detalla la distribución bacteriana a lo largo de los días de muestreos. En los resultados destaca que el jueves fue el día con mayor diversidad y número de aislamientos (n=24), concentrando el 53.8% de todos los casos de *K. pneumoniae* detectados en el estudio. No obstante, el análisis estadístico (p = 0.279) no permitió establecer que el día de muestreo fuera un factor determinante para la aparición de especies específicas, reforzando la naturaleza estocástica de la dispersión microbiana en el transporte.

La ausencia de significancia estadística ( $p = 0.279$ ) sugiere que la dispersión microbiana en el transporte público sigue un patrón aleatorio. Al tratarse de entidades biológicas, los microorganismos no se distribuyen bajo reglas fijas, sino que su presencia está supeditada a eventos fortuitos de contaminación cruzada y a la supervivencia diferencial en las superficies, lo que explica por qué un día (jueves) puede presentar un pico de diversidad sin que esto represente una tendencia sistemática.

**Tabla 7**

*Distribución de especies bacterianas aisladas según el día de la semana*

Microorganismo	Lun	Mar	Mié	Jue	Vie	Total
<i>E. coli</i>	11 (55.0%)	8 (50.0%)	10 (58.8%)	12 (50.0%)	7 (53.8%)	48 (53.3%)
<i>S. aureus</i>	4 (20.0%)	4 (25.0%)	5 (29.4%)	2 (8.3%)	4 (30.8%)	19 (21.1%)
<i>K. pneumoniae</i>	4 (20.0%)	2 (12.5%)	0 (0.0%)	7 (29.2%)	0 (0.0%)	13 (14.4%)
<i>Pseudomonas spp.</i>	1 (5.0%)	2 (12.5%)	1 (5.9%)	2 (8.3%)	0 (0.0%)	6 (6.7%)
Otros	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (5.9%)	1 (4.2%)	2 (15.4%)	4 (4.4%)
Total	20 (22.2%)	16 (17.8%)	17 (18.9%)	24 (26.7%)	13 (14.4%)	90 (100.0%)

$p = 0.279$  (Prueba Exacta de Fisher con extensión R x C para comparaciones múltiples)

#### 4.1.3. Resistencia antimicrobiana y multirresistencia (MDR)

En las Tablas 8 y 9, se muestran los resultados de la susceptibilidad de los 68 aislados Gram negativos a antibióticos. La resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación (Ceftriaxona y Ceftazidima) fue del 14.7%, sin variaciones significativas por superficie o por horario.

**Tabla 8***Resistencia antimicrobiana detallada por tipo de superficie*

<b>Antibiótico</b>	<b>Metal n/N (%)</b>	<b>Plástico n/N (%)</b>	<b>p*</b>
Gram Negativos (n=68)			
Ceftriaxona	5/33 (15.2)	5/35 (14.3)	>0.99
Ceftazidima	5/33 (15.2)	5/35 (14.3)	>0.99
Cefepime	4/33 (12.1)	5/35 (14.3)	>0.99
Imipenem	0/33 (0.0)	0/35 (0.0)	NA
Gram Positivos (n=19)			
Cefoxitina ( <i>S. aureus</i> )	1/8 (12.5)	0/11 (0.0)	0.42
<i>*Fisher exacto</i>			

**Tabla 9***Resistencia antimicrobiana detallada por horario de muestreo*

<b>Antibiótico</b>	<b>Mañana n/N (%)</b>	<b>Tarde n/N (%)</b>	<b>p*</b>
Gram Negativos (n=68)			
Ceftriaxona	7/32 (21.9)	3/36 (8.3)	0.17
Ceftazidima	7/32 (21.9)	3/36 (8.3)	0.17
Cefepime	6/32 (18.8)	3/36 (8.3)	0.29
Imipenem	0/32 (0.0)	0/36 (0.0)	NA
Gram Positivos (n=19)			
Cefoxitina ( <i>S. aureus</i> )	1/10	0/9	1.0
<i>*Fisher exacto</i>			

En la Tabla 10, el desglose semanal muestra que el lunes y el miércoles presentaron los picos más altos de resistencia (25.0% y 27.3% respectivamente); sin embargo, la prueba de Fisher ( $p > 0.05$  en todos los casos) indica que estas diferencias no son estadísticamente significativas. Esto significa que la variabilidad observada no es atribuible a una tendencia sistemática del día de muestreo, sino que responde a la variabilidad intrínseca y aleatoria de la muestra.

**Tabla 10***Resistencia antimicrobiana detallada por día de la semana*

<b>Antibiótico resistente</b>	<b>Lun</b>	<b>Mar</b>	<b>Mié</b>	<b>Jue</b>	<b>Vie</b>	<b>Total</b>	<b>p*</b>
Ceftriaxona	4/16 (25.0%)	0/12 (0.0%)	3/11 (27.3%)	2/21 (9.5%)	1/8 (12.5%)	10/68 (14.7%)	0.2592
Ceftazidima	4/16 (25.0%)	0/12 (0.0%)	3/11 (27.3%)	2/21 (9.5%)	1/8 (12.5%)	10/68 (14.7%)	0.2592
Cefepime	3/16 (18.8%)	0/12 (0.0%)	3/11 (27.3%)	2/21 (9.5%)	1/8 (12.5%)	9/68 (13.2%)	0.3549
Cefoxitin	0/4 (0.0%)	0/4 (0.0%)	0/5 (0.0%)	0/2 (0.0%)	1/4 (25.0%)	1/19 (5.3%)	0.4211

La prevalencia de bacterias MDR se detalla en la Tabla 11, alcanzando un 10.0% del total de aislamientos. No se encontró asociación significativa entre la condición MDR y el material de la superficie ( $p = 1.000$ ).

**Tabla 11***Multirresistencia (MDR) distribuida por tipo de superficie*

<b>Categoría</b>	<b>Metal (n=42)</b>	<b>Plástico (n=48)</b>	<b>Total</b>
MDR	4 (9.5)	5 (10.4)	9 (10.0)
No MDR	38 (90.5)	43 (89.6)	81 (90.0)
p = 1.000 (Fisher)			

En la Tabla 12, el turno de la mañana mostró una mayor proporción de cepas MDR (15.9%) frente a la tarde (6.5%), aunque sin alcanzar significancia estadística ( $p \approx 0.19$ ).

**Tabla 12***Multirresistencia (MDR) distribuida por horario de muestreo*

<b>Categoría</b>	<b>Mañana (n=44)</b>	<b>Tarde (n=46)</b>	<b>Total</b>
MDR	7 (15.9)	3 (6.5)	10 (11.1)
No MDR	37 (84.1)	43 (93.5)	80 (88.9)
p $\approx$ 0.19 (Fisher)			

la Tabla 13 refleja que el miércoles fue el único día con una tasa de MDR superior al 15%, aunque el valor  $p = 0.084$  se mantuvo por encima del nivel crítico.

**Tabla 13***Multirresistencia (MDR) distribuida por día de la semana*

<b>Categoría</b>	<b>Lun</b>	<b>Mar</b>	<b>Mié</b>	<b>Jue</b>	<b>Vie</b>	<b>Total</b>
MDR (n)	2/20	0/16	3/17	0/24	0/13	5/90
% MDR	10.0	0.0	17.6	0.0	0.0	5.5%

p = 0.084 (Prueba Exacta de Fisher con extensión R x C para comparaciones múltiples)

La Tabla 14 resume los hallazgos de mayor relevancia epidemiológica. El fenotipo BLEE (Betalactamasas de Espectro Extendido) se identificó en el 14.5% de los Gram negativos, distribuyéndose de forma equitativa entre metal y plástico (p = 0.76) y entre horarios (p= 1.00). En cuanto a los Gram positivos, se reporta un único caso de SARM (9.1% de los *S. aureus*) detectado en una superficie de plástico durante la tarde (p = 0.99), lo que indica que no existe una diferencia significativa ni una asociación entre el material o el horario con la presencia de este fenotipo. Este hallazgo se interpreta como un evento aislado que no permite establecer una tendencia de contaminación persistente por *S. aureus* resistente en la línea evaluada. Cabe resaltar la ausencia total de resistencia a carbapenémicos, lo cual constituye un indicador epidemiológico favorable dentro del perfil de riesgo detectado.

**Tabla 14***Presencia de fenotipos BLEE y SARM según variable independiente, calculados sobre el total de aislamientos bacterianos correspondientes.*

<b>Variable</b>	<b>Categoría</b>	<b>BLEE<sup>1</sup> n (%)</b>	<b>SARM<sup>2</sup> n (%)</b>	<b>Carbapenemasas<sup>3</sup></b>
Superficie	Metal	5 (16.1%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
	Plástico	5 (13.5%)	1 (9.1%)	0 (0.0%)
Horario	Mañana	5 (14.7%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
	Tarde	5 (14.7%)	1 (10.5%)	0 (0.0%)
Día	Lunes	2 (14.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
	Martes	2 (14.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
	Miércoles	2 (15.4%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
	Jueves	2 (15.4%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
	Viernes	2 (14.3%)	1 (20.0%)	0 (0.0%)

<sup>1</sup> Betalactamasas de Espectro Extendido en Enterobacterias.<sup>2</sup> *Staphylococcus aureus* resistente a cefoxitina.<sup>3</sup> Resistencia a Imipenem.

## 4.2. Discusión

El hallazgo de un 56.25 % de positividad para bacterias patógenas en las unidades de la línea seleccionada en el estudio es un indicador crítico de la carga microbiológica en el transporte público de Cuenca. Al comparar el resultado de prevalencia en Cuenca es superior al 41 % reportado por Sultan et al., (2025) en Asia, pero inferior al 78 % documentado en megaciudades como Nueva York (Vassallo et al., 2022). Esto puede deberse a que Cuenca posee una menor densidad poblacional, sin embargo, se evidencia una alta rotación de pasajeros en esta ruta, manteniendo una tasa de recontaminación constante.

Este fenómeno confirma que las unidades actúan como reservorios importantes donde la manipulación constante por parte de los usuarios sobrepasa la capacidad de los métodos de higiene tradicionales (D'Accolti et al., 2023).

Es importante entender que los resultados de este estudio pueden depender de la naturaleza intrínsecamente biológica y estocástica de los microorganismos, los cuales no siguen patrones lineales ni reglas fijas de distribución, sino que responden a eventos fortuitos de contaminación y supervivencia ambiental (Danko et al., 2021).

Un hallazgo de gran relevancia fue la falta de asociación significativa entre la carga bacteriana y las variables independientes como el material, horario y día ( $p > 0.05$ ). Estudios *in vitro* también han documentado que las propiedades fisicoquímicas de las superficies influyen en la adhesión bacteriana, los materiales plásticos con mayor rugosidad y naturaleza hidrofóbica pueden favorecer una mayor adhesión microbiana en comparación con superficies metálicas más lisas como el acero inoxidable, aunque la influencia del material puede ser variable según las condiciones experimentales y los microorganismos evaluados (Kranjc et al., 2024). Los resultados obtenidos en los buses de Cuenca muestran una distribución homogénea de la carga bacteriana entre superficies metálicas (52.5 %) y plásticas (60.0 %), lo que podría indicar que en entornos reales de transporte urbano la presencia bacteriana está más influenciada por la interacción continua con los usuarios y los ciclos de limpieza que por el tipo de material.

Esta condición puede deberse a la capacidad de las bacterias para formar biopelículas, gracias a la acumulación de materia orgánica como sudor, grasa cutánea y humedad que anula las propiedades intrínsecas del material y facilita la adhesión bacteriana (Kaur et al., 2024). De igual forma, la estabilidad de la carga entre la mañana y la tarde sugiere más que un equilibrio

biológico, una deficiencia en los protocolos de higienización de las unidades. La ausencia de diferencias significativas indica que la contaminación acumulada no se elimina eficazmente, lo que permite que los usuarios diseminen y redistribuyan los patógenos de forma constante en todas las superficies del vehículo. Esto evidencia que los métodos de limpieza actuales son insuficientes o inexistentes, perdiendo cualquier efecto protector desde el inicio de la jornada y manteniendo una cadena de transmisión ininterrumpida (Kalb et al., 2022).

La contaminación microbiana persistente de superficies de alto contacto en el transporte público tiene implicaciones directas para la salud humana, sobre todo en contextos urbanos densamente poblados. La exposición repetida a patógenos oportunistas incrementa el riesgo de colonización transitoria o permanente de piel y mucosas, especialmente en individuos con sistemas inmunológicos comprometidos, adultos mayores, niños y personas con enfermedades crónicas (Ly et al., 2024).

La predominancia de *E. coli* (53.3 %) y *S. aureus* (21.1 %) coincide con los perfiles de superficies de alto contacto descritos por Otter et al. (2013). La alta frecuencia de *E. coli*, indicador de contaminación fecal generalizada, implica un fallo crítico en la higiene de manos de los usuarios y en los protocolos de desinfección del vehículo. Su presencia constante en las superficies sugiere que los pasamanos funcionan como fómites de transmisión entérica, donde el contacto directo puede derivar en la autoinoculación de patógenos. Además, esta persistencia puede facilitar la formación de biopelículas en pasamanos y agarraderas, estructuras que protegen a los patógenos frente a agentes de limpieza y estrés ambiental, prolongando su viabilidad fuera del huésped (Nahum et al., 2025). Por ello, los buses son considerados un punto importante de “intercambio genético”, donde convergen bacterias de origen clínico y comunitario, facilitando la transferencia horizontal de genes de resistencia (Salazar et al., 2022).

Se identificó una prevalencia del 14,7 % de enterobacterias productoras de BLEE, lo que confirma la presencia de mecanismos de resistencia a cefalosporinas de tercera generación en un entorno urbano fuera del ámbito hospitalario. Debido a que la ruta de transporte seleccionada conecta con el Hospital José Carrasco Arteaga, es posible que la movilidad de pacientes y personal sanitario favorezca la diseminación de estas cepas hacia la comunidad. La exposición a estas bacterias representa un riesgo para la salud pública, ya que pueden causar infecciones gastrointestinales, urinarias o respiratorias. Aunque estas enfermedades suelen resolverse sin

complicaciones, la presencia de genes de resistencia dificulta el tratamiento, incrementando el riesgo de fracaso terapéutico y la necesidad de utilizar antibióticos de última línea.

La identificación de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE representa un riesgo crítico para la salud pública, no solo por su capacidad de colonización asintomática y de formación de reservorios intestinales silenciosos, sino también por su papel como indicadores de contaminación fecal. La persistencia de *E. coli* en las superficies del transporte sugiere que otros patógenos de la familia *Enterobacteriaceae* con mayor virulencia, tales como *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Yersinia spp.* o cepas enterohemorrágicas como *E. coli* O157:H7, podrían estar presentes y ser transmitidos por la misma vía (Hernández-Alomía et al., 2023; Soltani Shirazi et al., 2025).

Por otro lado, la ausencia total de resistencia al imipenem puede sugerir que la ciudad se encuentra en una fase temprana de circulación de resistencia de antibióticos de última línea. De acuerdo con el marco estratégico GLASS de la OMS (2024), este escenario representa una ventana epidemiológica crítica para la intervención preventiva antes de la consolidación comunitaria de carbapenemasas (OMS, 2025).

Desde un punto de vista biológico, la ausencia de bacterias resistentes a antibióticos de última línea, y que existan pocos casos de SARM, sugiere que el entorno de los buses todavía no facilita que estos microbios se establezcan por completo. Sin embargo, se debe reconocer que el tamaño de la muestra es una limitación. Debido a que las bacterias se mueven de forma variable y no están distribuidas de manera uniforme en todas partes, es posible que este número de muestras no haya captado toda la variedad de bacterias que realmente existen en el sistema de transporte. Además, la falta de análisis genómicos mediante secuenciación de nueva generación impide determinar con precisión las rutas de transmisión y el origen clonal de las cepas identificadas.

Pese a estas limitaciones, el diseño observacional y transversal empleado posee una validez práctica fundamental, ya que permite reflejar de manera real el riesgo ambiental al que se expone el ciudadano cuencano en su vida cotidiana. Estos hallazgos deben servir como un punto de partida para investigaciones futuras. Es necesario que este tipo de análisis se incorpore a programas reales de vigilancia por parte de las autoridades sanitarias y de transporte, permitiendo fundamentar políticas públicas que protejan de manera efectiva a la población bajo un enfoque de prevención integral.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### CONCLUSIONES

Se identificó que el 56.3% de las superficies analizadas estaban contaminadas con bacterias de importancia clínica. Las especies más frecuentes fueron *E. coli* (53.3%) y *S. aureus* (21.1%), por lo que las unidades que conectan con el Hospital José Carrasco Arteaga actúan como reservorios de patógenos que normalmente se asocian al contacto humano y a una higiene deficiente de las manos.

En cuanto a los perfiles de resistencia, el hallazgo más importante fue la presencia de un 14.7% de enterobacterias productoras de BLEE. Aunque la resistencia a meticilina (SARM) fue baja y no se detectó resistencia a carbapenémicos, la circulación de cepas BLEE en el transporte urbano muestra que la resistencia a antibióticos ya no es exclusiva de los hospitales, complicando el tratamiento de infecciones comunes en el futuro.

La contaminación se mantuvo constante sin importar el tipo de material (metal o plástico), el día o el horario, lo cual indica que la limpieza en los buses no es adecuada o no se usan los desinfectantes correctos, ya que la carga bacteriana se recupera o se mantiene igual de alta durante toda la jornada de trabajo.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda a las autoridades de salud y transporte establecer un programa de vigilancia microbiológica continua. Es necesario realizar muestreos con una mayor cantidad de buses y frecuencias para monitorear cómo evolucionan las bacterias resistentes (BLEE, SARM) en el tiempo.
- Se recomienda que futuras investigaciones incluyan la búsqueda de otros microorganismos de importancia crítica según la Organización Mundial de la Salud, para tener un panorama completo del riesgo epidemiológico.
- Ampliar el estudio a la metagenómica para determinar el resistoma completo (todos los genes de resistencia presentes) en la microbiota de los buses. Esto permitiría comprender tanto la presencia de las bacterias, así como los mecanismos de resistencia que se están compartiendo entre ellas en el ambiente urbano.
- Se recomienda fortalecer y optimizar los protocolos de limpieza y desinfección en las unidades de transporte público mediante la implementación de rutinas de desinfección al inicio y final de la jornada, así como limpiezas intermedias en horarios de alta afluencia de pasajeros. Se sugiere priorizar la desinfección de superficies de contacto frecuente, como pasamanos, asientos, puertas y timbres, utilizando desinfectantes con eficacia comprobada frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, tales como compuestos de amonio cuaternario, alcohol al 70% o soluciones cloradas en concentraciones recomendadas. Además, se recomienda la rotación periódica de desinfectantes y la capacitación del personal encargado de limpieza para disminuir el riesgo de adaptación microbiana y garantizar la correcta aplicación de los protocolos sanitarios.
- Promover en la comunidad la higiene de manos (uso de alcohol gel o lavado con jabón) antes y después de subir al bus. Dado que *E. coli* fue el principal hallazgo, esta medida es la forma más barata y efectiva de romper el ciclo de contaminación fecal-oral entre superficies de contacto y el ciudadano.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdulai, M., Abubabakari, Z. I., Cobinna, S. J., y Oduro, D. (2020). Bacteria loads of public transport in the Tamale metropolis, Ghana. *UDS International Journal of Development*, 7(2), 379-386. <https://doi.org/10.47740/492.UDSIJD6i>
- Afshinneko, E., Meydan, C., Chowdhury, S., Jaroudi, D., Boyer, C., Bernstein, N., Maritz, J. M., Reeves, D., Gandara, J., Chhangawala, S., Ahsanuddin, S., Simmons, A., Nessel, T., Sundaresh, B., Pereira, E., Jorgensen, E., Kolokotronis, S.-O., Kirchberger, N., Garcia, I., ... Mason, C. E. (2015). Geospatial resolution of human and bacterial diversity with city-scale metagenomics. *Cell Systems*, 1(1), 72-87. <https://doi.org/10.1016/j.cels.2015.01.001>
- Belay, W. Y., Getachew, M., Tegegne, B. A., Teffera, Z. H., Dagne, A., Zeleke, T. K., Abebe, R. B., Gedif, A. A., Fenta, A., Yirdaw, G., Tilahun, A., y Aschale, Y. (2024). Mechanism of antibacterial resistance, strategies and next-generation antimicrobials to contain antimicrobial resistance: A review. *Frontiers in Pharmacology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1444781>
- Boone, S. A., y Gerba, C. P. (2007). Significance of fomites in the spread of respiratory and enteric viral disease. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(6), 1687-1696. <https://doi.org/10.1128/AEM.02051-06>
- Broadwater, K., Ashley, K., y Ronnee, A. (2022). *Surface sampling guidance, considerations, and methods in occupational hygiene*. En National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) Manual of Analytical Methods (5th ed.) (cap. SG-2). Centers for Disease Control and Prevention. <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/124924>
- Bujňáková, D., Puvača, N., y Čirković, I. (2022). Virulence factors and antibiotic resistance of Enterobacterales. *Microorganisms*, 10(8), 1588. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10081588>
- Centers for Disease Control and Prevention (2020). *Coronavirus disease 2019 (COVID-19)*. [https://archive.cdc.gov/www\\_cdc\\_gov/coronavirus/2019-ncov/more/science-and-research/surface-transmission.html](https://archive.cdc.gov/www_cdc_gov/coronavirus/2019-ncov/more/science-and-research/surface-transmission.html)
- Centers for Disease Control and Prevention (2025a). *2019 antibiotic resistance threats report*. <https://www.cdc.gov/antimicrobial-resistance/data-research/threats/index.html>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2025b). *About antimicrobial resistance*. <https://www.cdc.gov/antimicrobial-resistance/about/index.html>

- Chebon, S., y Sonoiya, J. C. (2019). Diversity and antibiotics susceptibility of bacterial species on hand surfaces in public buses plying Kenyatta National Hospital route 7c in Nairobi. *Microbiology Research Journal International*, 27(2), 1-9. <https://doi.org/10.9734/mrji/2019/v27i230096>
- Murray, C. J. L., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Eve, L., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Kashef Hamadani, B. H., Kumaran, E. A. P., McManigal, B., ... Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629-655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2023). *M100: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (33rd ed.). Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Cochran, W. G. (1977). *Sampling techniques* (3rd ed.). Wiley.
- Cosentino, F., Viale, P., y Giannella, M. (2023). MDR/XDR/PDR or DTR? Which definition best fits the resistance profile of *Pseudomonas aeruginosa*? *Current Opinion in Infectious Diseases*, 36(6), 564-571. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000966>
- D'Accolti, M., Soffritti, I., Bini, F., Mazziga, E., Cason, C., Comar, M., Volta, A., Bisi, M., Fumagalli, D., Mazzacane, S., y Caselli, E. (2023). Shaping the subway microbiome through probiotic-based sanitation during the COVID-19 emergency: A pre–post case–control study. *Microbiome*, 11(1), 64. <https://doi.org/10.1186/s40168-023-01512-2>
- Danko, D., Bezdan, D., Afshin, E. E., Ahsanuddin, S., Bhattacharya, C., Butler, D. J., Chng, K. R., Donnellan, D., Hecht, J., Jackson, K., Kuchin, K., Karasikov, M., Lyons, A., Mak, L., Meleshko, D., Mustafa, H., Mutai, B., Neches, R. Y., Ng, A., ... Mason, C. E. (2021). A global metagenomic map of urban microbiomes and antimicrobial resistance. *Cell*, 184(13), 3376-3393.e17. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.05.002>
- Davies, J., y Davies, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74(3), 417-433. <https://doi.org/10.1128/mubr.00016-10>
- Espinoza, C., Méndez Padilla, F. P., Niola León, F. H., Espinoza, J., Cassis Dahik, A. J., Monar Mora, R. I., Orna Samaniego, C. A., Mendieta Marcillo, G. P., Nuñez Pérez, M. F., Cuñez Uvidia, V. T., Saquipay Ortega, H. V., y Pesantez Placencia, L. F. (2021). *Microbiological profile of samples obtained from newborns at the Hospital Vicente Corral Moscoso, Ecuador*. Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.5453507>

- Gajic, I., Kabic, J., Kekic, D., Jovicevic, M., Milenkovic, M., Mitic Culafic, D., Trudic, A., Ranin, L., y Opavski, N. (2022). Antimicrobial susceptibility testing: A comprehensive review of currently used methods. *Antibiotics*, *11*(4), 427. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040427>
- Robles Aguilar, G., Swetschinski, L. R., Weaver, N. D., Ikuta, K. S., Mestrovic, T., Gray, A. P., Chung, E., Wool, E. E., Han, C., Gershberg Hayoon, A., Araki, D. T., Abdollahi, A., Abu Zaid, A., Adnan, M., Agarwal, R., Aminian Dehkordi, J., Aravkin, A. Y., Areda, D., Azzam, A. Y., ... Naghavi, M. (2023). The burden of antimicrobial resistance in the Americas in 2019: A cross-country systematic analysis. *The Lancet Regional Health - Americas*, *25*. <https://doi.org/10.1016/j.lana.2023.100561>
- Griffith, C. (2016). Surface sampling and the detection of contamination. *Handbook of hygiene control in the food industry*, (pp. 673-696). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100155-4.00044-3>
- Hernández, A. M., Vargas-Robles, D., Alcaraz, L. D., y Peimbert, M. (2020). Station and train surface microbiomes of Mexico City's metro (subway/underground). *Scientific Reports*, *10*, 8798. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65643-4>
- Hernández-Alomía, F., Bastidas-Caldes, C., Ballesteros, I., Tenea, G. N., Jarrín-V., P., Molina, C. A., y Castillejo, P. (2023). Beta-Lactam antibiotic resistance genes in the microbiome of the public transport system of Quito, Ecuador. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *20*(3), 1900. <https://doi.org/10.3390/ijerph20031900>
- Hsu, T., Joice, R., Vallarino, J., Abu-Ali, G., Hartmann, E. M., Shafquat, A., DuLong, C., Baranowski, C., Gevers, D., Green, J. L., Morgan, X. C., Spengler, J. D., y Huttenhower, C. (2016). Urban transit system microbial communities differ by surface type and interaction with humans and the environment. *mSystems*, *1*(3), e00018-16. <https://doi.org/10.1128/msystems.00018-16>
- Hunt, D., y Kates, O. S. (2024). A brief history of antimicrobial resistance. *AMA Journal of Ethics*, *26*(5), 408-417. <https://doi.org/10.1001/amajethics.2024.408>
- Hurst, C. J., Crawford, R. L., Garland, J. L., y Lipson, D. A. (2007). *Manual of environmental microbiology*. American Society for Microbiology Press.
- Idrees, M., Sawant, S., Karodia, N., y Rahman, A. (2021). Staphylococcus aureus biofilm: Morphology, genetics, pathogenesis and treatment strategies. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *18*(14), 7602. <https://doi.org/10.3390/ijerph18147602>

- Joseph, T. M., Abdulmaksoud, S., Mortula, M. M., Beheiry, S., y Zareen, N. (2025). Microbiomes of the built environment: A systematic literature review. *Frontiers in Built Environment*, 11. <https://doi.org/10.3389/fbuil.2025.1657297>
- Kahsay, A. G., Asgedom, S. W., y Weldetinsaa, H. L. (2019). Enteric bacteria, methicillin resistant *S. aureus* and antimicrobial susceptibility patterns from buses surfaces in Mekelle city, Tigray, Ethiopia. *BMC Research Notes*, 12(1), 337. <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4366-1>
- Kalb, L., Bäßler, P., Schneider-Brachert, W., y Eckl, D. B. (2022). Antimicrobial photodynamic coatings reduce the microbial burden on environmental surfaces in public transportation—A field study in buses. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(4), 2325. <https://doi.org/10.3390/ijerph19042325>
- Kaur, H., Rosenberg, M., Kook, M., Danilian, D., Kisand, V., y Ivask, A. (2024). Antibacterial activity of solid surfaces is critically dependent on relative humidity, inoculum volume, and organic soiling. *FEMS Microbes*, 5, xtad022. <https://doi.org/10.1093/femsmc/xtad022>
- Kramer, A., Lexow, F., Bludau, A., Köster, A. M., Misailovski, M., Seifert, U., Eggers, M., Rutala, W., Dancer, S. J., y Scheithauer, S. (2024). How long do bacteria, fungi, protozoa, and viruses retain their replication capacity on inanimate surfaces? A systematic review examining environmental resilience versus healthcare-associated infection risk by «fomite-borne risk assessment». *Clinical Microbiology Reviews*, 37(4), e0018623. <https://doi.org/10.1128/cmr.00186-23>
- Kranjc, K., Avberšek, J., Šemrov, N., Zorman-Rojs, O., y Barlič-Maganja, D. (2024). Salmonella Infantis Adhesion to Various Surfaces and In Vitro Antimicrobial Efficacy of Commercial Disinfectants. *Pathogens*, 13(11), 999. <https://doi.org/10.3390/pathogens13110999>
- Leung, M. H. Y., Wilkins, D., Li, E. K. T., Kong, F. K. F., y Lee, P. K. H. (2014). Indoor-air microbiome in an urban subway network: Diversity and dynamics. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(21), 6760-6770. <https://doi.org/10.1128/AEM.02244-14>
- Ly, Y.-T., Leuko, S., y Moeller, R. (2024). An overview of the bacterial microbiome of public transportation systems—Risks, detection, and countermeasures. *Frontiers in Public Health*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2024.1367324>
- Naciones Unidas. (2015). *Objetivos de Desarrollo Sostenible*. <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/health/>

- Nahum, Y., Muhvich, J., Morones-Ramirez, J. R., Casillas-Vega, N. G., y Zaman, M. H. (2025). Biofilms as potential reservoirs of antimicrobial resistance in vulnerable settings. *Frontiers in Public Health*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2025.1568463>
- Onardien, S., Pingulkar, S., Thayagan, M., Buniotto, L., y de Oliveira Negreiros, M. (2024). The antibacterial performance of a residual disinfectant against *Staphylococcus aureus* on environmental surfaces. *Frontiers in Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1338238>
- Organización Mundial de la Salud. (2023). Resistencia a los antimicrobianos. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- Organización Mundial de la Salud. (2025). Sistema mundial de vigilancia de la resistencia y el uso de los antimicrobianos (GLASS). <https://www.who.int/initiatives/glass>
- Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud. (2023). Resistencia a los antimicrobianos en las Américas. <https://www.paho.org/en/publications/antimicrobial-resistance-americas>
- Otter, J. A., Yezli, S., Salkeld, J. A. G., y French, G. L. (2013). Evidence that contaminated surfaces contribute to the transmission of hospital pathogens and an overview of strategies to address contaminated surfaces in hospital settings. *American Journal of Infection Control*, 41(5 Suppl), S6-11. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2012.12.004>
- Paulson, D. S. (2009). *Biostatistics and Microbiology: A Survival Manual*. Springer.
- Roca, L., y Ángel, D. (2014). *Pseudomonas aeruginosa*: Un adversario peligroso. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 48(4), 465-474.
- Rojas Triviño, A. (2011). *Conceptos y práctica de Microbiología general*. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/8391>
- Salazar, C., Giménez, M., Riera, N., Parada, A., Puig, J., Galiana, A., Grill, F., Vieytes, M., Mason, C. E., Antelo, V., D'Alessandro, B., Risso, J., y Iraola, G. (2022). Human microbiota drives hospital-associated antimicrobial resistance dissemination in the urban environment and mirrors patient case rates. *Microbiome*, 10(1), 208. <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01407-8>
- Sánchez, M. F. G., González, P. I. B., Muicela, E. I. G., y Lupercio, B. S. R. (2024). Prevalencia de betalactamasas en urocultivos de pacientes ambulatorios en el Hospital Vicente Corral Moscoso, período 2019 – 2022. *Anatomía Digital*, 7(4.1), 27-40. <https://doi.org/10.33262/anatomiadigital.v7i4.1.3247>
- Satán, C., Satyanarayana, S., Shringarpure, K., Mendoza-Ticona, A., Palanivel, C., Jaramillo, K., Villavicencio, F., Davtyan, H., y Esparza, G. (2023). Epidemiology of antimicrobial

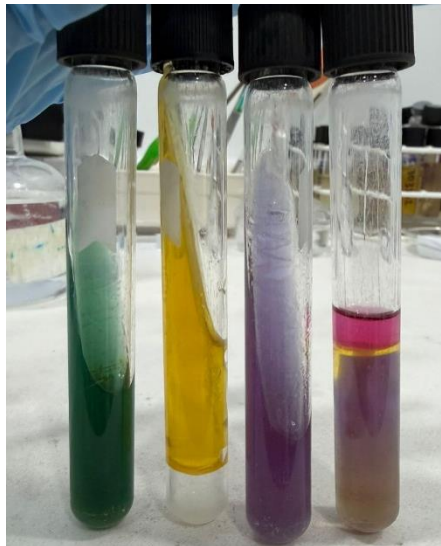
- resistance in bacteria isolated from inpatient and outpatient samples, Ecuador, 2018. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 47, e14. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2023.14>
- Sati, H., Carrara, E., Savoldi, A., Hansen, P., Garlasco, J., Campagnaro, E., Boccia, S., Castillo-Polo, J. A., Magrini, E., Garcia-Vello, P., Wool, E., Gigante, V., Duffy, E., Cassini, A., Huttner, B., Pardo, P. R., Naghavi, M., Mirzayev, F., Zignol, M., ... WHO Bacterial Priority Pathogens List Advisory Group. (2025). The WHO Bacterial Priority Pathogens List 2024: A prioritisation study to guide research, development, and public health strategies against antimicrobial resistance. *The Lancet Infectious Diseases*, 25(9), 1033-1043. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(25\)00118-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(25)00118-5)
- Soltani Shirazi, A., Kiani, N., Aghamohammad, S., Shafiei, M., Alavi Darazam, I., Darabi, S., y Badmasti, F. (2025). Clonal dissemination of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in outpatients as fecal-carriages: Predominance of the high-risk clone ST231. *BMC Infectious Diseases*, 25(1), 1235. <https://doi.org/10.1186/s12879-025-11670-3>
- Stephens, B., Azimi, P., Thoemmes, M. S., Heidarinejad, M., Allen, J. G., y Gilbert, J. A. (2019). Microbial exchange via fomites and implications for human health. *Current Pollution Reports*, 5(4), 198-213. <https://doi.org/10.1007/s40726-019-00123-6>
- Sultan, N., Seyoum, A., Ayele, F., y Mekonnen, G. K. (2025). Pathogenic bacterial profile, associated factors, and antimicrobial susceptibility patterns in intra-city public transport in Harar City, Eastern Ethiopia. *Frontiers in Public Health*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2025.1521479>
- Tang, K. W. K., Millar, B. C., y Moore, J. E. (2023). Antimicrobial resistance (AMR). *British Journal of Biomedical Science*, 80, 11387. <https://doi.org/10.3389/bjbs.2023.11387>
- Vassallo, A., Kett, S., Purchase, D., y Marvasi, M. (2022). The bacterial urban resistome: Recent advances. *Antibiotics*, 11(4), 512. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040512>
- Whiteway, C., Breine, A., Philippe, C., y Van der Henst, C. (2022). *Acinetobacter baumannii*. *Trends in Microbiology*, 30(2), 199-200. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.11.008>
- Wißmann, J. E., Kirchhoff, L., Brüggemann, Y., Todt, D., Steinmann, J., y Steinmann, E. (2021). Persistence of pathogens on inanimate surfaces: A narrative review. *Microorganisms*, 9(2), 343. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020343>







*Anexo D Perfil bioquímico característico de E. coli aislada del estudio*



De izquierda a derecha: 1) Citrato de Simmons: Resultado negativo (medio verde), indicando la incapacidad de asimilar citrato. 2) TSI (Triple Sugar Iron): Reacción Ácido/Ácido (A/A) con producción de gas y ausencia de H<sub>2</sub>S. 3) LIA (Lysine Iron Agar): Reacción Alcalino/Alcalino (K/K), positiva para la descarboxilación de la lisina. 4) Medio MIO (Movilidad, Indol, Ornitina): Triple resultado positivo; se observa enturbiamiento difuso (movilidad), formación de anillo rojo tras reactivo de Kovac's (indol) y viraje a púrpura en la base (descarboxilación de ornitina).

*Anexo E Antibiograma de cepa productora de BLEE, evidenciando sinergia con ácido clavulánico*



Se observa ampliación del halo de inhibición y efecto de “sinergia” entre los discos de ceftazidima (CAZ) y ceftriaxona (CRO) en presencia de ácido clavulánico (AMC), evidenciando el fenómeno de aproximación o keyhole effect, confirmatorio del fenotipo BLEE.

*Anexo F* Antibiograma de *S. aureus* con resistencia a cefoxitina compatible con fenotipo SARM.

