

FORTHCOMING N62P10-02-23-02

ESTUDIO ESTADÍSTICO DE LOS FACTORES DE RIESGO Y DETERMINACIÓN DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* POR PCR CONVENCIONAL EN CARNE DE RES COMERCIALIZADA EN LOS MERCADOS DE HUÁNUCO, PERÚ

Wilder Javier Martel Tolentino*, Christian Michael Escobedo Bailón*, Ernestina Ariza Avila*, Luis Paúl Ortega Chávez*, Fermín Campos Solórzano**

*Universidad Nacional Hermilio Valdizan, Huánuco, Perú

**Universidad Nacional de Ucayali, Pucallpa, Perú

ABSTRACT

This paper aims to identify risk factors and to determine the level of contamination of *Pseudomonas aeruginosa* by conventional Polymerase Chain Reaction (PCR) in beef commercialized in the markets of Huánuco, Peru. To meet this objective, an epidemiological study was carried out. The sample consisted of 300 biological analyses of beef meats in the markets of Huánuco. A sample was taken from each position, making a total of 300 during a few days. Observation guides were used in order to collect data. The determination of the presence of *Pseudomonas aeruginosa* was made by PCR. A statistical analysis was carried out using contingency tables and Chi-square Pearson's test, between the possible causes of contamination and the results obtained from the sample analysis. *Pseudomonas aeruginosa* was isolated in 69 samples out of a total of 300, corresponding to a frequency of 23%. Among the identified factors are: dirty uniform of another color ($p=2.5469 \times 10^{-13}$); dirty hands ($p=0.000$); work utensils in poor condition and dirty ($p=3.4776 \times 10^{-12}$); these factors were statistically significant to the frequency of *Pseudomonas aeruginosa* in beef.

KEYWORDS: Contamination, *Pseudomonas aeruginosa*, beef meat, contingency table, Pearson's Chi square test.

MSC: 62P10, 62P20.

RESUMEN

Este artículo tiene como objetivo identificar los factores de riesgo y para determinar el nivel de contaminación de *Pseudomonas aeruginosa* por *Polymerase Chain Reaction* (PCR) convencional en la carne de res comercializada en los mercados de Huánuco, Perú. Para cumplir con este objetivo se llevó a cabo un estudio epidemiológico. La muestra estuvo conformada por 300 análisis biológicos de la carne de res en los mercados de Huánuco. De cada puesto se tomó una muestra haciendo un total de 300 durante varios días. Se utilizaron guías de observación con el fin de recolectar datos. La determinación de la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* fue hecha por PCR. Se realizó un análisis estadístico mediante tablas de contingencia y la prueba Chi-cuadrado de Pearson, entre las posibles causas de contaminación y los resultados obtenidos de los análisis muestrales. Se aisló *Pseudomonas aeruginosa* en 69 muestras de un total de 300 que corresponde a una frecuencia de 23%. Dentro de los factores identificados se encuentra: uniforme sucio de otro color ($p=2,5469 \times 10^{-13}$); manos sucias ($p=0,000$); utensilios de trabajo en mal estado y sucio ($p=3,4776 \times 10^{-12}$); estos factores resultaron significativos estadísticamente a la frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* en la carne de res.

PALABRAS CLAVES: Contaminación, *Pseudomonas aeruginosa*, carne de res, tabla de contingencia, prueba Chi-cuadrado de Pearson.

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por alimentos en muchos países en vías de desarrollo, representan uno de los problemas de salud pública más importantes, que inciden en el ámbito económico, político y social [8]. Las enfermedades transmitidas por alimentos vienen a ser el resultado de una mala higiene; la cual se traduce en un elevado número de brotes principalmente de origen microbiano. En los Estados Unidos de América, por ejemplo la incidencia anual de estos padecimientos se estima entre 24-81 millones de casos, sin embargo en los países del tercer mundo el problema es más acentuado ([4]).

La carne proporciona valiosos nutrientes para la salud de los humanos, aportando todos los aminoácidos esenciales, del mismo modo una buena cantidad de vitaminas, minerales y muchos micronutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo; además, es una fuente importante de hierro, zinc y selenio, así como de vitaminas B6, B12 y D, y significativas cantidades de ácidos grasos esenciales como Omega-3 (n-3) y ácido linoleico conjugado ([1]). Esta se define como aquellos tejidos animales que pueden emplearse como alimento. Todos los productos procesados o manufacturados que se preparan a partir de aquellos tejidos. En sentido amplio, incluye también las partes blandas de los peces, mariscos, aves de corral y animales de caza. Aquí se incluyen también las grasas, embutidos y productos cárnicos preparados a partir de carne de animales de sangre caliente. En forma genérica se denomina carne a la parte comestible, sana y limpia de los músculos de los bovinos, ovinos, porcinos, caprinos, camélidos y otros animales.

La carne es un alimentario altamente perecedero que, a menos que se congele adecuadamente o se almacene, se deteriorará rápidamente debido al desarrollo de microorganismos, deshidratación, exposición al oxígeno, y pérdidas de aroma y color.

Pseudomonas aeruginosa son cepas que presentan un característico color verde brillante, debido a la producción de los pigmentos piocianina, de color azul, y pioverdina, de color amarillo fluorescente, los cuales juntos le dan dicha coloración ([16]). Esta bacteria es un bacilo muy versátil, es oxidasa positiva y puede crecer a temperaturas superiores a 42°C; *Pseudomonas aeruginosa* viene a ser un habitante común de aguas, suelos y plantas. En los hospitales se puede encontrar en respiradores, humidificadores, vertederos, duchas, piscinas de hidroterapia y ocasionalmente en las manos de los trabajadores de la salud ([7]).

Pseudomonas aeruginosa es un patógeno oportunista, que causa una amplia gama de infecciones, principalmente nosocomiales ([10]). En la región Huánuco, las infecciones producidas por *P. aeruginosa* por consumo de carne de res, no son conocidas, lo que supone un grave riesgo para la salud de la población, por tal motivo, se planteó determinar la existencia de *Pseudomonas aeruginosa* por *Polymerase Chain Reaction* (PCR, por sus siglas en inglés) convencional, en la carne de res comercializada en los mercados de Huánuco.

Este artículo se propone estudiar cuál es el nivel de contaminación de *Pseudomonas aeruginosa* determinada por PCR convencional en relación a los factores de riesgo en la carne de res comercializada en los mercados de Huánuco, Perú en 2019.

Para cumplir con este objetivo se dirige la investigación sobre los aspectos siguientes:

- Determinar la asociación entre el factor de uniforme sucio de otro color y la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en la carne de res comercializada en los mercados de Huánuco.
- Determinar la asociación entre el factor de manos sucias y la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en la carne de res comercializada en los mercados de Huánuco.
- Determinar la asociación entre el factor utensilios de trabajo en mal estado y sucio y la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en la carne de res comercializada en los mercados de Huánuco.

La presente investigación es de gran importancia por las siguientes razones:

- En la ciudad de Huánuco se cuenta con tres principales mercados: modelo, antiguo y de Paucarbamba en donde se puede apreciar que los comerciantes no cumplen con las mínimas normas de seguridad.
- La realización del presente trabajo de investigación permitirá tomar conciencia sobre la importancia del hallazgo de microorganismos como *Pseudomonas aeruginosa* que contaminan la carne de res que se comercializan en los mercados de Huánuco.
- Este trabajo será uno de los primeros en la región Huánuco en la que se determinará *Pseudomonas aeruginosa* mediante PCR.

El estudio estadístico consistió en tomar 300 muestras según un muestreo aleatorio estratificado en puestos de los diferentes mercados de la ciudad de Huánuco. El muestreo aleatorio estratificado divide a la población en subpoblaciones o estratos tal que ellas son disjuntas por pares y además su unión es la de toda la población. El objetivo de este tipo de muestreo es dividir a la población de manera que exista homogeneidad entre los elementos de cada estrato y diferenciación entre un estrato y otro. Por ejemplo, si se encuesta a la población sobre su gusto por ciertos programas televisivos, es necesario dividirla en sectores etarios, puesto que existen programas no adecuados para menores de edad, así como otros dirigidos a un público de edad específica, como pueden ser los programas infantiles o los dedicados a recordar cine de décadas anteriores donde el público más importante es el de la tercera edad.

En este caso se utiliza el muestreo estratificado porque los mercados no tienen igual número de puestos de venta de carne de res, es por ello que para que la muestra sea representativa se necesita que los mercados con más puestos tengan mayor número de elementos en la muestra.

Para ello se estudiaron tablas de contingencia que correlacionan las frecuencias de los valores de los diferentes factores antes mencionados, como son uniforme sucio de otro color, manos sucias y presencia de utensilios de trabajo en mal estado y sucio. Recuérdese que las tablas de contingencia se emplean para registrar y analizar la relación entre dos o más variables, habitualmente de naturaleza cualitativa (nominales u ordinales) [2][15]. Las filas corresponden a posibles valores de una de las variables y las columnas corresponden a los posibles valores de la otra variable. En cada casilla de sitúa la frecuencia de ocurrencia de datos con ambos valores en común. La prueba Chi cuadrado de Pearson se utiliza para determinar la existencia o no de correspondencia entre las variables observadas y una distribución teórica Chi cuadrado ([9][12]).

Este artículo se divide en una sección de Materiales y Métodos, dentro de la cual se explican algunos detalles técnicos de los procedimientos que se aplican, más las nociones básicas de las herramientas estadísticas utilizadas, como son el cálculo del tamaño de una muestra aleatoria, las ecuaciones relacionadas con el muestreo aleatorio estratificado y la prueba Chi cuadrado de Pearson. A continuación en la sección 3 se exponen los resultados obtenidos del estudio. La última sección es de las conclusiones.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Sobre la carne de res y su contaminación

Los microorganismos contaminan a las carnes desde el aire, el suelo, el agua, el manipulador, excremento de animales, utensilios, los insectos (que en este caso actúan como vectores). También un matarife puede transmitir microorganismos al canal con las manos sucias, a través del contacto con lesiones infectadas o a través de la tos o el estornudo. Como se ve, vivimos en un mundo microbiano y hay muchas oportunidades para que las carnes se contaminen a medida que se preparan [11].

La *Pseudomonas aeruginosa* es un bacilo Gram negativo no fermentador, ampliamente distribuido en la naturaleza, que constituye un habitante habitual del suelo, las plantas y el agua. Durante los últimos 50 años ha mostrado su potencial como patógeno humano devastador principalmente en pacientes con graves enfermedades de base y con tratamiento antimicrobiano previo ([5]).

La *Pseudomonas aeruginosa* está entre los tres bacilos Gram negativos más frecuentemente aislados a partir de la sangre. Tiene una amplia distribución en la naturaleza, preferentemente en ambientes húmedos.

Constituye un saprófito cuando coloniza individuos sanos. Es un patógeno en personas inmunodeficientes, son la causa más común de las neumonías hospitalarias.

2.2. Tablas de contingencia y Prueba Chi cuadrado de Pearson

Se usó el muestreo aleatorio estratificado, no obstante por cada estrato se aplicó el muestreo aleatorio simple. Las fórmulas para calcular el tamaño de la muestra son las siguientes ([3][17]):

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

Donde:

n: es el tamaño de la muestra,

N: es el tamaño de la población,

k: es una constante dependiente del nivel de confianza,

e: es el error de muestreo,

p: es la proporción de la población que satisface la característica que se mide,

q: es 1-p.

El muestreo estratificado consiste en dividir la población en diferentes estratos o subpoblaciones donde cada una de ellas satisfice una característica específica que la hace homogénea ([6]). Por ejemplo, para que la muestra sea representativa se prefiere dividirla de manera que cada mercado tenga una representación proporcional a su número total de puestos de ventas de carne de res.

Si $N = N_1 + \dots + N_k$, donde N es el tamaño de la población y N_1, \dots, N_k son los tamaños de las subpoblaciones. Entonces, para obtener el tamaño de la muestra n se sigue uno de los tres criterios siguientes:

- Se divide la muestra en grupos o clases, donde el tamaño de la muestra correspondiente al i -ésimo estrato n_i es proporcional según N_i/N .
- Se sigue la proporcionalidad según la variabilidad del parámetro que sirve para definir los estratos. En este caso es similar a la fórmula del punto anterior, pero sustituyendo el tamaño de la población por una medida de variabilidad, que puede ser la varianza o la desviación estándar.
- El tamaño muestral es igual para todos los estratos, de manera que se obtiene más precisión en las subpoblación de tamaño menor y se pierde en la subpoblación de mayor tamaño.

El objetivo es obtener $n = n_1 + \dots + n_k$.

Los principales estimadores en un muestreo estratificado son los siguientes:

Total:

$$\hat{X} = \sum_{l=1}^k N_l \bar{X}_l \quad (2)$$

Media:

$$\hat{\bar{X}} = \sum_{l=1}^k \omega_l \bar{X}_l = \sum_{l=1}^k \frac{N_l}{N} \bar{X}_l \quad (3)$$

Proporción:

$$\hat{P} = \sum_{l=1}^k \omega_l \hat{P}_l \quad (4)$$

Donde:

\bar{X}_l es la media muestral para la variable X en el estrato l .

N_l es el tamaño del l -ésimo estrato.

N es el tamaño de la población total.

n_l es el tamaño de la muestra para el estrato l .

n es el tamaño de la muestra.

\hat{P}_l es la proporción muestral de la variable en el estrato l .

Y la estimación del error que se halla cuando se estiman los parámetros de la población son los siguientes:

Total:

$$\hat{V}(\hat{X}) = \sum_{l=1}^k N_l^2 (1 - f_l) \frac{S_l^2}{n_l} \quad (5)$$

Con $f_l = \frac{n_l}{N_l}$ y $\hat{S}_l^2 = \frac{n_l}{n_l - 1} \left[\frac{1}{n_l} \sum_{i=1}^{n_l} X_{li}^2 - \bar{X}_l \right]$.

Media:

$$\hat{V}(\hat{\bar{X}}) = \sum_{l=1}^k \omega_l^2 (1 - f_l) \frac{S_l^2}{n_l} \quad (6)$$

Proporción:

$$\hat{V}(\hat{P}) = \sum_{l=1}^k \omega_l^2 (1 - f_l) \frac{\hat{P}_l \hat{Q}_l}{n_l - 1} \quad (7)$$

Donde $\hat{Q}_l = 1 - \hat{P}_l$.

Nótese que cuando se usa ω_l en lugar de $\frac{n_l}{N_l}$, se adecua a poblaciones infinitas o a muestreo con reposición sobre poblaciones finitas.

La Prueba Chi cuadrado de Pearson es una prueba estadística no paramétrica que mide la distancia entre una distribución observada y una teórica ([9][12]). Con ella se determina en qué medida estas diferencias son estadísticamente significativas.

La fórmula del estadígrafo es la siguiente:

$$\chi^2 = \sum_i \frac{(x_i - \mu_i)^2}{\mu_i} \quad (8)$$

Donde μ_i es el i ésimo valor de la distribución teórica y x_i es el i ésimo valor de la población observada. Los grados de libertad se calculan por la siguiente fórmula cuando se aplica este método para tablas de contingencia:

$$gl = (r - 1)(k - 1) \quad (9)$$

Donde r es el número de filas y k el de columnas.

El criterio de decisión es no rechazar H_0 cuando $\chi^2 < \chi_{\alpha}^2 (r - 1)(k - 1)$, en caso contrario sí rechazar H_0 .

3. RESULTADOS

La ciudad de Huánuco consta de al menos veinte mercados, no obstante cuatro de ellos son los más importantes en cuanto a la venta de carne de res y otros productos en general, estos son: Mercado modelo, Mercado de Paucarbamba, Mercado Antiguo y Mercado Las Moras. Es por ese motivo que en la investigación se obtuvieron las muestras de estos cuatro mercados y de una quinta entidad que se llamó “Otros” para designar los otros mercados incluidos, donde se tomaron muestras.

Otra limitación que se tuvo en la investigación es el costo que significa el uso de la técnica de PCR, es por eso que el tamaño de la muestra está limitado por este aspecto. Por otro lado, es necesario tener un tamaño de muestra suficientemente grande para que sea representativa. Para cumplir con los dos requisitos se tomó como procedimiento para obtener las muestras lo siguiente:

1. Se determina el porcentaje de puestos de venta de carne de res en cada uno de los 5 lugares de estudio con respecto al total de los puestos en los 5 lugares.
2. El tamaño de la muestra de cada lugar se determina según la proporción calculada, siguiendo el tipo de muestreo estratificado.
3. Las muestras dentro de un mismo lugar se toman haciendo un muestreo aleatorio simple sobre una muestra de carne de res de un puesto determinado al azar. Para garantizar un mayor tamaño de la muestra este proceso se extiende en días sucesivos, hasta completar el porcentaje del total que le corresponde a cada lugar.
4. Para garantizar que se pueda llevar a cabo el experimento, se pactó con el laboratorio la realización de hasta 300 pruebas de PCR.

La Tabla 1 muestra los porcentajes pactados de muestras realizadas por cada uno de los lugares.

Mercados	#Muestras	%
Mercado de Paucarbamba	86	28,6
Mercado Modelo	122	40,8
Mercado Antiguo	43	14,3
Mercado Las Moras	43	14,3
Otros	6	2,0
Total	300	100,0

Tabla 1. Cantidad de pruebas PCR realizadas y porcentajes según los 5 lugares estudiados. Fuente: Los autores.

A partir de esta muestra se recolectaron algunos datos de interés sobre cada uno de los lugares. Los datos sobre el género de los expendedores aparecen en la Tabla 2.

Sexo del expendedor	Frecuencia	%
Masculino	43	14,3
Femenino	257	85,7
Total	300	100,0

Tabla 2. Género del expendedor que comercializa carne de res en los mercados estudiados. Fuente: Los autores.

La Tabla 3 contiene los datos del tiempo de trabajo en el oficio de los expendedores seleccionados.

Tiempo en años trabajando en el rubro	Frecuencia	%
2 a 4	197	65,7
5 a 7	86	28,7
8 a 9	9	3,0
10 a más	8	2,7
Total	300	100,0

Tabla 3. Tiempo en años trabajando en el rubro del expendedor que comercializa carne de res de los lugares estudiados. Fuente: Los autores.

En cuanto a los resultados del estudio biológico sobre la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en las muestras, se tiene la Tabla 4 y la Figura 1:

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Frecuencia	%
-------------------------------	-------------------	----------

Sí	69	23,0
No	231	77,0
Total	300	100,0

Tabla 4. Frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* en carne de res de los lugares estudiados. Fuente: Los autores.

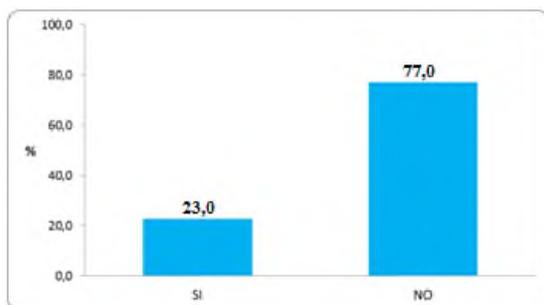


Figura 1. Porcentaje de carne de res según frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* de los mercados de Huánuco 2019. Fuente: Los autores.

Las Tablas 5, 6 y 7 muestran las tablas donde se resumen las incidencias encontradas de cada uno de los factores posibles de riesgo.

Uniforme sucio de otro color	Frecuencia	%
Sí	154	51,3
No	146	48,7
Total	300	100,0

Tabla 5. Factor de uniforme sucio de otro color en expendedores que comercializan carne de res de los mercados de Huánuco 2019. Fuente: Los autores.

Manos sucias	Frecuencia	%
Sí	163	54,3
No	137	45,7
Total	300	100,0

Tabla 6. Factor de manos sucias en expendedores que comercializan expendedores carne de res de los mercados de Huánuco 2019.

Fuente: Los autores.

Las Tablas 8, 9 y 10, así como las Figuras 11, 12 y 13, contienen las tablas de contingencia y los cálculos obtenidos de aplicar la prueba Chi cuadrado de Pearson. Para el procesamiento de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 20,0 para Windows [13][14].

Utensilios de trabajo en mal estado y sucio	Frecuencia	%
Sí	86	28,7
No	214	71,3
Total	300	100,0

Tabla 7. Factor de utensilios de trabajo en mal estado y sucio en expendedores carne de res de los mercados de Huánuco 2019 Fuente: Los autores

Uniforme sucio de otro color	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				Total		Prueba Chi cuadrado	Significancia
	Sí		No		N°	%		
	N°	%	N°	%				
Sí	9	3,0	146	48,7	155	51,7	53,530	2,5469x10 ⁻¹³
No	60	20,0	85	28,3	145	48,3		
Total	69	23,0	231	77,0	300	100,0		

Tabla 8. Relación entre el factor de uniforme sucio de otro color y frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* en carne de res de los mercados de Huánuco 2019. Fuente: Los autores.

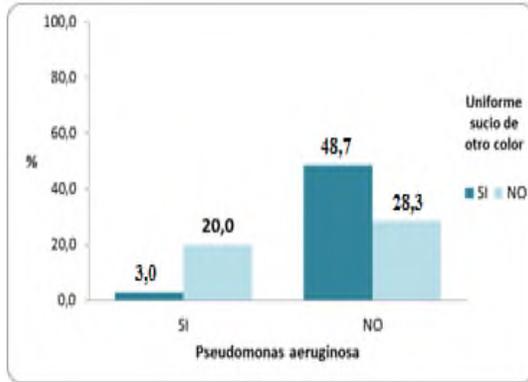


Figura 2. Porcentaje de carne de res según factor uniforme sucio de otro color y frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* de los mercados de Huánuco 2019. Fuente: Los autores.

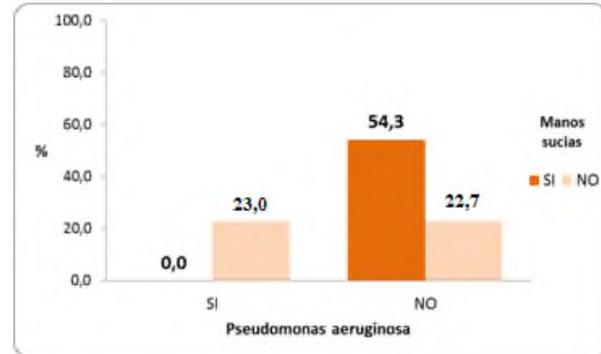


Figura 3. Porcentaje de carne de res según factor de manos sucias y frecuencia *Pseudomonas aeruginosa* de los mercados de Huánuco 2019. Fuente: Los autores.

Manos sucias	Pseudomonas aeruginosa				Total		Prueba Chi cuadrado	Significancia
	Sí		No		N°	%		
	N°	%	N°	%				
Sí	0	0,0	163	54,3	163	54,3	106,62	0,000
No	69	23,0	68	22,7	137	45,7		
Total	69	23,0	231	77,0	300	100,0		

Tabla 9. Relación entre el factor de manos sucias y frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* en carne de res de los mercados de Huánuco 2019. Fuente: Los autores

Utensilios de trabajo en mal estado y sucio	Pseudomonas aeruginosa				Total		Prueba Chi cuadrado	Significancia
	Sí		No		N°	%		
	N°	%	N°	%				
Sí	42	14,0	43	14,3	85	28,3	48,399	3,4776x10 ⁻¹²
No	26	8,7	189	63,0	215	71,7		
Total	68	22,7	232	77,3	300	100,0		

Tabla 10. Relación entre el factor de utensilios de trabajo en mal estado y sucio y frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* en carne de res de los mercados de Huánuco 2019. Fuente: Los autores.

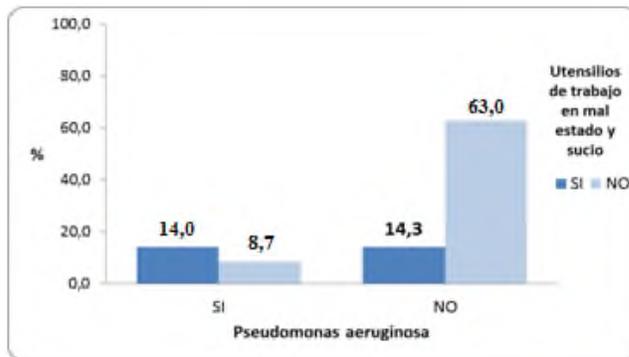


Figura 4. Porcentaje de carne de res según factor de utensilios de trabajo en mal estado y sucio y frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* de los mercados de Huánuco 2019

Si se toma como umbral el valor de 0,05, se puede concluir que en los tres casos se tiene $p \leq 0,05$ lo que significa que se rechaza la hipótesis nula y por tanto la diferencia es significativa entre el factor estudiado y la presencia de contaminación.

Los porcentos de muestras contaminadas por cada uno de los mercados estudiados fue el siguiente:

Mercados	#Muestras contaminadas	%
Mercado de Paucarbamba	14	20,29
Mercado Modelo	21	30,435
Mercado Antiguo	14	20,29
Mercado Las Moras	13	18,841
Otros	7	10,145
Total	69	100,0

Tabla 11. Número de muestras contaminadas por lugar de estudio y porciento. Fuente: Los autores.

4. CONCLUSIONES

Con el desarrollo de la presente investigación se aisló el *Pseudomonas aeruginosa* de 69 muestras de carne de res de un total de 300, que corresponde a una frecuencia de 23%. Dentro de los factores estudiados, uniforme sucio de otro color ($p=2,5469 \times 10^{-13}$); manos sucias ($p=0,000$); utensilios de trabajo en mal estado y sucio ($p=3,4776 \times 10^{-12}$); resultaron significativas estadísticamente a la frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* en la carne de res. Esto permitirá alertar a las autoridades de la ciudad, específicamente a los trabajadores y dueños de los mercados sobre el peligro potencial sanitario dentro de sus establecimientos. El objetivo es identificar las causas y corregir los malos procedimientos.

RECEIVED: FEBRUARY, 2023.
REVISED: MAY, 2023.

REFERENCIAS

- [1]. CAMPO-PORTACIO, D. M., DISCUVICHE-REBOLLEDO, M. A., BLANCO-TUIRÁN, P. J., MONTERO-PÉREZ, Y. M., OROZCO-MÉNDEZ, K. E. y ASSIA-MERCADO, Y. M. (2014): Detección de *Toxoplasma gondii* por amplificación del gen B1 en carnes de consumo humano. **Infectio**, 18, 93-99.
- [2]. EVERITT, B.S. (2019): **The analysis of contingency tables**. Chapman and Hall/CRC.
- [3]. GILLARD, J. (2020) **A First Course in Statistical Inference**, Springer Nature.
- [4]. GRAU, S., MARÍN, M., ÁLVAREZ-LERMA, F. y GIMENO, J. L. (2001): Problemática y soluciones actuales en el tratamiento de las infecciones por microorganismos grampositivos. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, 19, 393-398.
- [5]. HØIBY, N., JOHANSEN, H. K., MOSER, C., SONG, Z., CIOFU, O. y KHARAZMI, A. (2001): *Pseudomonas aeruginosa* and the in vitro and in vivo biofilm mode of growth. **Microbes and infection**, 3, 23-35.
- [6]. LAGARES BARREIRO, P., PUERTO ALBANDOZ, J. (2001): Population and Sampling. Sampling Technique. **Reporte Técnico: Management Mathematics for European Schools 94342 - CP - 1 - 2001 - 1 - DE - COMENIUS - C21**. Disponible en: <http://www.mathematik.uni-kl.de/~mamausch>.
- [7]. LIU, L., LIU, B., LI, Y. y ZHANG, W. (2018): Successful control of resistance in *Pseudomonas aeruginosa* using antibiotic stewardship and infection control programs at a Chinese university hospital: a 6-year prospective study. **Infection and Drug Resistance**, 11, 637-646.
- [8]. MARÍN, D. C. (2001): Los efectos del envejecimiento demográfico sobre el gasto sanitario: mitos y realidades. **Gaceta Sanitaria**, 15, 154-163.
- [9]. MENDIVELSO, F. y RODRÍGUEZ M. (2018): Prueba Chi-Cuadrado de independencia aplicada a tablas 2xN. **Revista Médica Sanitas**, 21, 92-95.
- [10]. MINDICH, L., COHEN, J. y WEISBURD, M. (1976): Isolation of nonsense suppressor mutants in *Pseudomonas*. **Journal of Bacteriology**, 126, 177-182.
- [11]. MIRA, M. J. M., SALES, M. B., DOMINGO, C. G., MIRA, M. J. M., SAURA, B. P., MALLÉN, G. R. y PORCAR, L. T. (2016): Tratamiento empírico de las infecciones del adulto. **Fmc**, 23, 9-71.
- [12]. MOORE, D.S. (2017) Tests of chi-squared type. En: **Goodness of fit techniques**,. 63-96. Routledge.
- [13]. RODE, J.B., RINGEL, M.M. (2019): Statistical software output in the classroom: A comparison of R and SPSS. **Teaching of Psychology**, 46, 319-327.

- [14]. RODRÍGUEZ, R.J. (2004): **Ayuda SPSS chi cuadrado. Notas Metodológicas**. Publicado online. Disponible en: http://www.rubenjoserodriguez.com.ar/wp-content/uploads/2011/06/ayuda_SPSS-Chi_Cuadrado_Notas_Metodologicas.pdf
- [15]. STEMMLER, M. (2020): **Person-Centered Methods: Configural Frequency Analysis (CFA) and Other Methods for the Analysis of Contingency Tables** (2nd Ed. 2020 Edition): Cham: Springer Nature.
- [16]. VAN DER BIJ, A., VAN DER ZWAN, D., PEIRANO, G., SEVERIN, J., PITOUT, J., VAN WESTREENEN, M., GOESSENS, W. y GROUP, M.-P. S. S. (2012): Metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in the Netherlands: the nationwide emergence of a single sequence type. **Clinical Microbiology and Infection**, 18, E369-E372.
- [17]. WU, C., THOMPSON, M. E (2020): **Sampling Theory and Practice**, Springer Nature, Switzerland AG.