



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL CENTRAL DR. IGNACIO MORONES PRIETO

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OBTENER EL DIPLOMA EN
LA ESPECIALIDAD DE MEDICINA INTERNA.

**GENOTIPIFICACIÓN DE CLONAS CIRCULANTES DE
Acinetobacter baumannii EN EL HOSPITAL CENTRAL “DR.
IGNACIO MORONES PRIETO” DURANTE EL AÑO 2018.**

DR. PEDRO GUDIÑO BRAVO

DIRECTOR CLÍNICO
DR. JAVIER ARAUJO MELÉNDEZ

DIRECTOR METODOLÓGICO
DRA. MARIANA SALGADO BUSTAMANTE

ASESOR CLÍNICO
DR. ARTURO ORTÍZ ÁLVAREZ

ASESOR METODOLÓGICO
MBM ALAN YTZEEN MARTÍNEZ CASTELLANOS

Febrero de 2020

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE MEDICINA
ESPECIALIDAD EN MEDICINA INTERNA

GENOTIPIFICACIÓN DE CLONAS CIRCULANTES DE *Acinetobacter baumannii*
EN EL HOSPITAL CENTRAL “DR. IGNACIO MORONES PRIETO” DURANTE EL
AÑO 2018.

PRESENTA
DR. PEDRO GUDIÑO BRAVO

Director de Tesis Dr. Javier Araujo Meléndez	
Asesor Metodológico Dra. Mariana Salgado Bustamante	

Sinodales	
Dr. Martín Magaña Aquino	
Dr. Carlos Olán Uscanga	
Dr. Pedro Torres González	
Dra. Ana Luisa Molina González Coordinadora de la Especialidad en Medicina Interna.	
M. en C. Ma. del Pilar Fonseca Leal Jefe de Investigación y Posgrado Clínico de la Facultad de Medicina	

RESUMEN

Objetivos: Identificar las clonas circulantes de *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) en pacientes hospitalizados en el Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” durante el periodo de octubre de 2017 a junio de 2018. Reportar las características clínicas y bioquímicas de los pacientes en los que se aisló la bacteria. Realizar un árbol filogenético de las clonas. Reportar la frecuencia del aislamiento de cada clona por sala de hospitalización y por mes de aislamiento.

Sujetos y métodos: Se incluyeron todos los aislamientos de *A. baumannii* en el periodo establecido. Se obtuvieron variables clínicas y bioquímicas de los pacientes correspondientes. Se enviaron mezclas de ADN purificado a secuenciación. Se describieron resultados de las clonas obtenidas en relación a las variables. Construimos un árbol filogenético con el modelo Jukes y Cantor.

Resultados: Se obtuvieron resultados significativos de la secuenciación de 19 muestras. La mayor parte provenía de tejidos blandos (52%). Se trató de pacientes con edad promedio de 39.7 años, con bajo índice de comorbilidades, hospitalizados en las áreas de cirugía mujeres y quemados (68%), con internamientos prolongados, exposición a ventilación mecánica y a múltiples antibióticos. Solo 12 (63%) de los aislamientos fueron considerados infectantes y recibieron tratamiento. El índice de resistencia a antibióticos fue alto (carbapenémicos 78%).

En la secuenciación se documentaron 5 especies diferentes. No hubo clonas repetidas. Se construyó el árbol filogenético. Dos de las cepas fueron reportadas inicialmente en el laboratorio de microbiología como *Alcaligenes faecalis* y 3 correspondieron a la subespecie *Acinetobacter haemolyticus*. Solo hubo 1 defunción, correspondiente *A. baumannii* aislado 09A16CRGN0 en aspirado traqueal, la especie más aislada, que se comportó como un brote en el área de cirugía mujeres.

Conclusiones: Los aislamientos reportados como *Acinetobacter* en el hospital corresponden a distintas subespecies y la mayoría tuvo un comportamiento como colonizante, en gran medida explicado porque se trataron de cultivos de tejidos blandos. Los métodos automatizados de cultivo son susceptibles a errores y la genotipificación nos permitió diferenciarlos. Se debe considerar la posibilidad de colonización al aislar *Acinetobacter* en tejidos blandos en nuestro hospital. Se debe de hacer énfasis en las medidas de prevención de transmisión bacteriana.



DEDICATORIAS

A mis padres y mis hermanos, siempre.

A Maguito por ser la mejor.

A bebé Karen que nació con esta tesis.



AGRADECIMIENTOS

A mis asesores por sus aportaciones, sin ellos esto no sería posible, particularmente a Alan por el apoyo en el procesamiento de las muestras y a la Dra. Mariana por el apoyo en el financiamiento del estudio.

A todo el personal del laboratorio de microbiología del Hospital Central por realizar una labor de excelencia.

ÍNDICE

RESUMEN	I
DEDICATORIAS	II
AGRADECIMIENTOS	III
ANTECEDENTES.	1
JUSTIFICACIÓN.	8
HIPÓTESIS.	9
OBJETIVOS.	9
SUJETOS Y MÉTODOS.	10
DISEÑO DEL ESTUDIO.....	10
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	12
ÉTICA.....	13
RESULTADOS.....	14
DISCUSIÓN.	21
LIMITACIONES Y/O NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN.	25
CONCLUSIONES.....	26
BIBLIOGRAFÍA.	27
ANEXOS	31

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación de <i>A. baumannii</i> de acuerdo a resistencia	3
Tabla 2: Características clínicas de los aislamientos	15
Tabla 3: Motivo y Sala de Internamiento de los pacientes	16
Tabla 4: Sitios de cultivo y resistencia a antibióticos de los aislamientos	16
Tabla 5: Especies aisladas de <i>Acinetobacter</i>	17
Tabla 6: Características clínicas y de resistencia de las especies aisladas de <i>Acinetobacter</i>	18

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Ejemplo de árbol filogenético.....	2
Gráfico 2: Episodios de infección por <i>A. baumannii</i> MDR en la UCI de mayo de 2009 a diciembre de 2009. Expresada en TASA (Episodios por cada 100 camas).....	6
Gráfico 3. Flujograma de los aislamientos.....	14
Gráfico 4: Filogenia de los aislamientos mayoritarios de <i>A. baumannii</i>	19
Gráfico 5: Frecuencia de aislamiento de distintas especies de acuerdo al mes en estudio	19
Gráfico 6: Frecuencia de aislamiento de las distintas especies de acuerdo a la sala de hospitalización	20

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

A. baumannii: *Acinetobacter baumannii*

A. haemolyticus; *Acinetobacter haemolyticus*

CDC: Centro para el Control de Enfermedades

DS: Desviación estándar

ECDC: Centro Europeo para el Control de Enfermedades

EE.UU: Estados Unidos de Norteamérica

ELA: Esclerosis Lateral Amiotrófica

IAM: Infarto Agudo de Miocardio

MALDI-TOF: Ionización laser asistida por matriz con detección de iones

MDR: Multidrogo-resistente

MLST: Tipificación multilocus de secuencias

No.: Número

PCR ESI-MS: Reacción en cadena de polimerasa multilocus seguida de ionización por electroespray y espectrometría de masas

PDR: Pandrogo-resistente

PFGE: Electroforesis en gel de campo pulsado

PS: Pan-susceptible

REP-PCR: Secuenciación basada en secuencias palindrómicas repetitivas extragénicas

SOFA: Escala de evaluación de falla orgánica secuencial

UASLP: Universidad Autónoma de San Luis Potosí

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos

UVEPCIN: Unidad de Vigilancia Epidemiológica y Control de Infecciones Nosocomiales

XDR: Extensamentedrogo-resistente

ANTECEDENTES.

Generalidades.

El género conocido como *Acinetobacter*, comprende un grupo de bacterias bacilos Gram negativas, catalasa positivas, oxidasa negativas, no móviles y no fermentadoras de lactasa¹. Es un género que habitualmente es confundido en técnicas de microbiología habitual como cocos Gram positivos o Gram negativos, al tratarse de bacilos cortos con difícil tinción por métodos microbiológicos habituales¹. El mismo ha sufrido importantes modificaciones taxonómicas en los últimos 30 años^{1,2}.

Su representante más importante, *A. baumannii*, ha emergido como uno de los patógenos más problemáticos para instituciones sanitarias a nivel mundial³. Su relevancia clínica, especialmente en los últimos 15 años, está determinada, por su alta capacidad para adquirir determinantes de resistencia. Existen cepas reportadas resistentes a todos los antibióticos utilizados en la actualidad, convirtiéndolo en un evento relevante para la comunidad sanitaria internacional^{4,5}.

La habilidad de *A. baumannii* para sobrevivir por periodos de tiempo prolongados en el ambiente hospitalario, potencia su capacidad de transmisión nosocomial⁶. Este organismo suele afectar a los pacientes hospitalizados más vulnerables, aquellos críticamente enfermos, con pérdida de la barrera de protección de la piel o con métodos invasivos de la vía aérea⁵. Uno de los principales sitios de afección de esta bacteria son las vías respiratorias, siendo la neumonía la presentación clínica más frecuente, sin embargo, se reconoce su presentación como infecciones del sistema nervioso central, piel y tejidos blandos e infecciones óseas^{5,7}.

La mayor parte de las especies recuperadas de especímenes clínicos humanos tienen al menos alguna significancia como patógenos^{8,9}. *Acinetobacter* es parte de la flora de la piel y mucosa humana, estando presente hasta en 43% de los pacientes no hospitalizados⁸.

El interés en *Acinetobacter* por la comunidad científica y pública ha crecido en los últimos años debido a su impacto en la mortalidad y costos asociados al manejo de esta enfermedad³.

Árbol filogenético.

Un árbol filogenético es un diagrama que representa relaciones en la evolución entre organismos. Se consideran hipótesis y no hechos definitivos. El patrón de ramas en estos diagramas refleja cómo especies o grupos evolucionan a través de una serie de ancestros comunes. En estos árboles dos especies se encuentran más relacionadas si tienen un ancestro común más reciente¹⁰.

Se utiliza con frecuencia para entender la evolución de distintas bacterias y se han realizados diversos análisis filogenéticos de *A. baumannii*, a nivel poblacional y a nivel global¹¹.

Uno de los métodos clásicos y más frecuentemente utilizados para desarrollar un diagrama como este es el de máxima verosimilitud con el modelo Jukes and Cantor¹². Por ejemplo, en el gráfico 1, adaptado de Baum D, et al¹⁰, se representa la relación entre 5 especies, A, B, C, D y E, que se encuentran posicionadas al final de cada rama. Se muestran las características principales de estos tipos de diagrama.

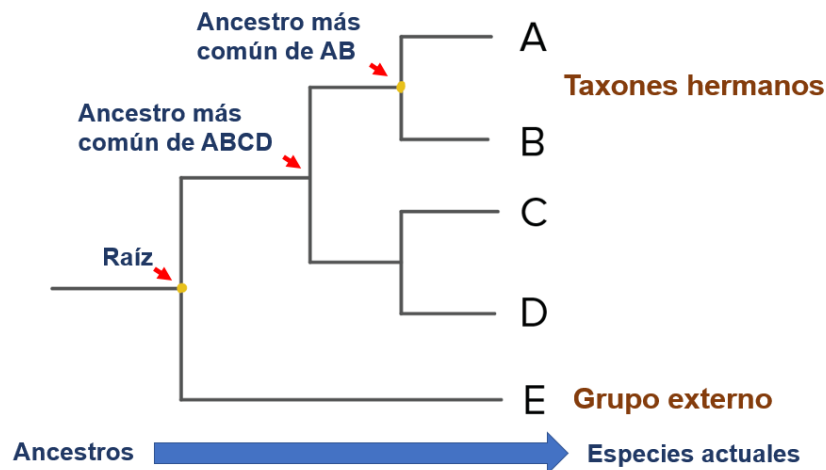


Gráfico 1: Ejemplo de árbol filogenético

Genoma de *A. baumannii*

Se considera que el genoma de esta bacteria presenta gran plasticidad¹³, mucha de su evolución se caracteriza por recombinación y transmisión horizontal de genes¹⁴. *A. baumannii* demuestra genomas altamente divergentes, con la aparición de pocas clonas altamente exitosas¹⁵. Un estudio publicado en 2015, demostró mediante el

análisis del árbol filogenético global de la bacteria, que una sola rama recientemente derivada puede exhibir significativa diversidad genotípica y fenotípica¹⁶.

Los genes que confieren resistencia a betalactámicos son principalmente bla_{oxa}-51¹⁷ y el elemento de inserción ISAb₁¹⁸, que se conservan en diferentes ramas filogenéticas de la bacteria.

Clasificación de *A. baumannii* de acuerdo a resistencia:

Las bacterias que presentan relevancia clínica suelen ser clasificadas de acuerdo a la cantidad de antibióticos a los que son resistentes. En 2011 se unificaron los criterios de la ECDC y la CDC para clasificar a *A. baumannii*, en base a las siguientes clases de antibióticos¹⁹

Clase de antibióticos	Antibióticos específicos	Clasificación
Aminoglucósidos	Gentamicina, Amikacina, Tobramicina, Netilmicina	MDR: resistente a 1 o más antibióticos de 3 clases XDR: resistente a 1 o más antibióticos de 7 clases PDR: resistente a todos los agentes PS: susceptible a todos los antibióticos
Carbapenémicos	Meropenem, Doripenem, Imipenem	
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacino, Levofloxacino	
Penicilinas	Piperazilina + Tazobactam, Ticacilina + Ácido clavulánico	
Cefalosporinas	Ceftazidina, Cefepime, Ceftriaxona, Cefotaxima	
Inhibidores de folatos	TMP-SMX	
Penicilinas	Ampicilina-Sulbactam	
Polimixinas	Colistina, Polimixina B	
Tetraciclinas	Tetraciclina, Minociclina, Doxiciclina	

Tabla 1: Clasificación de *A. baumannii* de acuerdo a resistencia

Clasificando *A. baumannii* como: Multidrogo-resistente (MDR), Extensamentedrogo-resistente (XDR), Pandrogo-resistente (PDR) y Pan-susceptible (PS)¹⁹.

El estudio más grande que evaluó la resistencia actual de la bacteria se realizó en EE.UU. incluyendo 39,320 cepas de 2003 a 2012, donde la resistencia a carbapenémicos fue de 47.9% y se consideraron MDR 35%⁵.

Técnicas habituales de cultivo y tipificación:

Las especies de *Acinetobacter* que afectan al humano crecen bien en medios sólidos como el agar sangre de carnero y el tripticasa de soya, a incubación a 37°C¹. Éstos organismos forman colonias blanquecinas grisáceas, a veces de características mucosas. El esquema de tipificación más común fue propuesto desde 1986 por Bouvet y Grimont²⁰ basado en 28 pruebas de fenotipificación, que incluyen crecimiento a 37, 41 y 44°C, producción de ácido a partir de glucosa, hidrólisis de gelatina y asimilación de 14 fuentes de carbono, la cual permite la discriminación entre 11 de las 12 especies genómicas inicialmente descritas, y permite identificar el 95.6% de las 136 especies de *Acinetobacter*, descritas a partir de muestras de piel humana⁸. Sin embargo, no permite la discriminación de especies genómicas recientemente descritas y en particular no permite diferenciar las especies clínicamente relevantes²¹.

Métodos de tipificación epidemiológica:

Para controlar la diseminación de *A. baumannii* en un medio hospitalario es necesario identificar potenciales reservorios del organismo y los modos de transmisión²². Para distinguir entre una cepa causante de un brote de las cepas sin relevancia epidemiológica es necesario comparar estas a nivel de subespecies y clonas y las formas de hacerlo son conocidas como métodos de tipificación epidemiológica²².

Existen diversas pruebas moleculares, que incluyen, en orden histórico: perfil plásmido²³, ribotyping²⁴, electroforesis en gel²⁵, amplificación aleatoria de ADN polimórfico²⁶, REP PCR²⁷, y más recientemente MLST²⁸ y PCR-ESI-MS multilocus²⁹.

La propensión para la aparición de brotes de *A. baumannii* multidrogo resistente ha sido claramente demostrada, solo una o dos cepas fueron encontradas en más de 20 brotes utilizando entre 1977-2000, PFGE o tipificación mediante PCR para valorar clonas³⁰. En un brote en la ciudad de Nueva York, dos cepas fueron las causantes de todos los aislamientos resistentes a carbapenémicos³¹, éste y otros reportes demuestran claramente la importancia de la aplicación de medidas de control de transmisión de cepas MDR.

Se considera en la actualidad que el estándar de oro es la secuenciación completa del ADN de la bacteria (genotipificación)³².

Existe un estudio previo realizado en el Hospital General de México en 2017, donde se analizaron 112 muestras de aislamientos de *A. baumannii* multidrogo resistente³². Se identificaron 11 clonas diferentes y una clona en específico fue la causante de la mayoría de los brotes, se identificaron las clonas circulantes por cada sala de hospitalización y pudieron evaluar mecanismos de resistencia a nivel molecular³². En dicho estudio la mortalidad reportada del total de aislamientos fue del 52%, la resistencia a carbapenémicos del 90%, se clasificaron como productores de metalo-beta-lactamasas y carbapenemasas el 88% y estas estuvieron asociadas a la presencia del gen bla_{oxa}-72 en el 95% de los casos ³².

Epidemiología local

Existe una publicación previa donde se reportó el comportamiento de *Acinetobacter* en nuestro hospital en 2014³³. Hubo 25 casos de bacteriemia, con una mortalidad reportada del 63%. La incidencia de neumonía asociada a ventilador fue de 10 casos por cada 1000 días de ventilador con una mortalidad 30%. Se consideraron XDR 45%, MDR 35% y PDR 20% de las cepas³³.

La tasa de infecciones por *A. baumannii* MDR presentó un pico en incidencia a partir de la pandemia de influenza AH1N1 en 2009 de acuerdo a la información obtenida a través de la UVEPCIN del Hospital Central³⁴ como se puede mostrar en el gráfico 2. A partir de junio de 2016 se han realizado intervenciones para disminuir la transmisión de la bacteria donde se observa una disminución importante en la tasa de episodios.

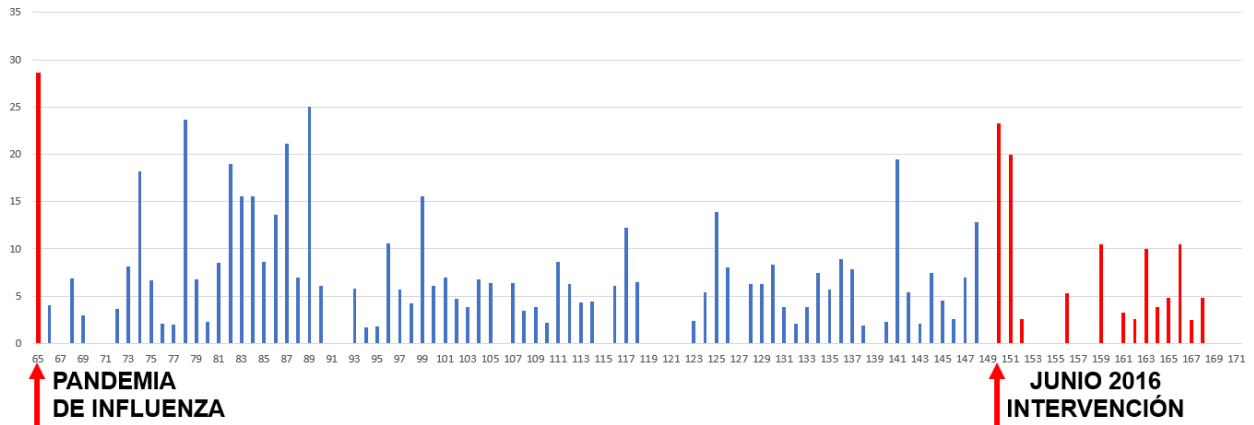


Gráfico 2: Episodios de infección por *A. baumannii* MDR en la UCI de mayo de 2009 a diciembre de 2009. Expresada en TASA (Episodios por cada 100 camas).

Medidas de prevención de transmisión bacteriana.

Ante brotes de *Acinetobacter*, se han propuesto las siguientes medidas de intervención³⁵:

- 1) Investigación epidemiológica molecular local, como se ha mencionado previamente
- 2) Cultivos del medio ambiente para determinar si existe una fuente epidemiológica común (se ha aislado *A. baumannii* como fuente infecciosa en tubos de ventilación mecánica, catéteres de succión, humidificadores, contenedores de agua destilada, bolsas recolectoras de orina, viales de medicamentos multidosis, bolsas de nutrición parenteral, superficies húmedas de camas, transductores intraarteriales de presión inadecuadamente esterilizados y teclados de computadoras^{36,37}.
- 3) Aumento de las medidas de higiene ambiental alrededor de un paciente infectado
- 4) Mejorar las medidas de aislamiento de los pacientes infectados
- 5) Manejo racional de antibióticos, para asegurar que no se usen de forma excesiva en pacientes en riesgo y evitar generación de resistencia³⁵.

Aunque el aislamiento de cepas de *Acinetobacter* en las manos de personal sanitario es típicamente transitorio, puede ser más prolongado en individuos con lesiones cutáneas³⁷. En algunos escenarios se han requerido el cierre del acceso a nuevo personal médico al cuidado de pacientes infectados³⁷. En la actualidad las principales medidas de control epidemiológico radican en la higiene de manos como método principal de prevención de transmisión paciente a paciente^{35,37}.

Métodos de Cultivo en el Hospital Central y errores documentados.

En el laboratorio de microbiología del Hospital la mayor parte de los cultivos son procesados por un sistema automatizado VITEK® 2 de la empresa BioMérieux. Es un sistema que utiliza tarjetas con reactivos colorimétricos, las que son inoculadas con la suspensión de un cultivo puro microbiano y el perfil del desarrollo es interpretado de forma automática³⁸. Por lo general es un sistema muy confiable, se ha comprobado en estudios en nuestro país, que el tiempo promedio de identificación de una bacteria con susceptibilidad antibiótica para Gram negativos es de 10 horas y para gram positivos de 9.95 horas³⁹.

Sin embargo, puede tratarse también de un equipo susceptible a errores. En enero de 2018, fueron reportados 4 casos de inadecuada tipificación de *A baumannii* como *Alcaligenes faecalis* mediante VITEK en Seúl, Korea⁴⁰. Se sospechó en *Acinetobacter* por las características de los pacientes y la tinción de Gram. La confirmación de que se trataron de una bacteria diferente se realizó mediante MALDI-TOF (un método basado en espectrometría de masas).

Se documentó un episodio similar en el Hospital Central en junio de 2018 donde se confirmó, en un caso de neumonía asociada a ventilador, que una cepa reportada como *Alcaligenes faecalis* correspondía a *A. baumannii* mediante el mismo método³⁴.

El inadecuado reporte de una bacteria conlleva un potencial riesgo para el paciente al poder considerarse colonización.

Tratamiento de infecciones por *A. baumannii*

En general se considera que el tratamiento de estas infecciones debe ser individualizado, manejado por un experto y en base a la resistencia local. Por lo general se basa en combinaciones de antibióticos tomando en cuenta el sitio de afección⁵. Los aminoglucósidos y quinolonas no se recomiendan como monoterapia y fármacos como la colistina presentan nefrotoxicidad en 30-50% de los casos⁴¹.

Tomando en cuenta los costos hasta 2019 en el Hospital Central, un tratamiento combinado de Meropenem y Tigeciclina por 10 días, sin tomar en cuenta costos de hospitalización, es de alrededor de \$32,500.00 pesos mexicanos⁴².

JUSTIFICACIÓN.

En la Unidad de Cuidados Intensivos de adultos del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” se atienden aproximadamente cuatro pacientes por mes, con infección por *A. baumannii* y los aislamientos de esta bacteria en otras áreas de hospitalización son frecuentes. La incidencia de neumonía asociada a ventilador es de 10 casos por cada 1000 días de ventilador y se reportan en promedio 25 casos de bacteriemias anuales. Estas cepas muestran patrones de resistencia a carbapenémicos hasta en un 80%. La mortalidad por *Acinetobacter* reportada en nuestro hospital es de 63% en bacteriemias y de 30% en neumonías.

El tratamiento de esta bacteria genera un alto impacto en los costos de hospitalización, ya que alarga la estancia y el tratamiento involucra combinación de antibióticos de amplio espectro, con múltiples efectos adversos e interacciones.

Se considera que este estudio tiene relevancia para el diagnóstico situacional en nuestro entorno, realizándose con el estándar ideal para este tipo de estudios obteniendo el genoma completo de los aislamientos.

Dada la vulnerabilidad de los pacientes afectados y los patrones de resistencia presentados, la identificación de variantes clonales de *A. baumannii*, supone un impacto importante en las probabilidades de éxito del tratamiento antimicrobiano ya que ayudará a documentar clonas que presentan un comportamiento como colonizantes, evitando tratamientos innecesarios y las consideradas como más patógenas o causantes de brotes.

El documentar las clonas consideradas infectantes, nos permitirá realizar medidas preventivas adecuadas para evitar la transmisión de un germen reduciendo el impacto en costos y morbimortalidad en pacientes de nuestro medio, causadas por un germen nosocomial.

Si bien el estudio presenta la limitación de la corta temporalidad de toma de aislamientos (de octubre de 2017 a junio de 2018) y tratarse de un estudio retrospectivo, permitirá abrir una línea de investigación que tratará de establecer asociaciones entre las clonas y fuentes reservorio de la bacteria, así como en investigaciones futuras tratar de establecer relación entre la gravedad o el impacto económico de la enfermedad y clonas circulantes específicas.



HIPÓTESIS.

Existen 2 o más clonas circulantes de *A. baumannii* en el Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”.

OBJETIVOS.

Objetivo principal: Identificar las clonas circulantes de *A. baumannii* aisladas en pacientes hospitalizados en el Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto durante el periodo de octubre de 2017 a junio de 2018.

Objetivos secundarios:

1. Reportar las características clínicas y bioquímicas de los pacientes en los que se aisló *A. baumannii*.
2. Realizar un árbol filogenético de las cepas tipificadas.
3. Reportar la frecuencia del aislamiento de cada clona de *A. baumannii* por sala de hospitalización y por mes de aislamiento.



SUJETOS Y MÉTODOS.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Tipo de investigación: Observacional

Tipo de diseño: Retrospectivo

Características del estudio: Transversal, retrospectivo, unicéntrico

METODOLOGÍA

Lugar de realización:

Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”.

Facultad de Medicina UASLP, Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular.

Universo del estudio:

Pacientes hospitalizados en el Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” en los cuales se aisló una cepa de *A. baumannii* durante el periodo de octubre de 2017 a junio 2018.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de Inclusión:

Pacientes hospitalizados durante el periodo de octubre de 2017 a junio de 2018 en los que se haya aislado *A. baumannii* en el laboratorio de microbiología.

Criterios de exclusión:

Cepa no conservada en el laboratorio.

Expediente no disponible en archivo clínico para su análisis.

Variables del estudio

Las variables del estudio, así como su naturaleza, esquema de codificación y unidades de medida se reportan en el **anexo 1**.

PLAN DE TRABAJO

1. Se realizó el anteproyecto a lo largo de 2 meses con apoyo de los asesores Dr. Javier Araujo Meléndez y Dr. Arturo Ortiz Álvarez. Fue sometido ante los comités de Investigación y Ética en Investigación donde fue aprobado.
2. Se tomaron muestras de las cepas ya aisladas de *A. baumannii* en el laboratorio de Microbiología, directamente de los medios de desarrollo. Fueron transportadas al laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Medicina de la UASLP, donde fueron resembradas y procesadas para su envío a secuenciación con apoyo del asesor MBM Alan Ytzeen Martínez Castellanos. La descripción detallada del proceso de identificación de los aislamientos y secuenciación se incluyen en el **anexo 2**.
3. Fueron recolectadas las variables clínicas de los pacientes en los que se aislaron las cepas.
4. Se obtuvieron los resultados de secuenciación y fueron sometidos al análisis filogenético con el apoyo de los asesores Dra. Mariana Salgado Bustamante y MBM Alan Ytzeen Martínez Castellanos
5. Se realizó el análisis estadístico y descriptivo, con apoyo de los asesores Dr. Javier Araujo Meléndez y Dr. Arturo Ortiz Álvarez.
6. Se redactó este trabajo, fue revisado y corregido por los asesores y enviado a impresión.

Bases de datos consultadas:

- Expedientes de archivo clínico de los pacientes en los que se aisló *A. baumannii* en el periodo establecido.
- Base de datos del Sistema Vitek®2 del laboratorio de microbiología para obtener el antibiograma.
- Se accedió a la secuencia modelo de *A. baumannii* cepa ATCC 17978 disponible en Genbank (Accesión No.: NZ_CP018664.1) para construir el árbol filogenético de los aislamientos.



ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Métodos de muestreo y tamaño de la muestra:

Muestreo no probabilístico por conveniencia, se incluyeron la totalidad de los aislamientos de *A. baumannii* del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” que cumplieron con los criterios de selección, en el periodo establecido

Método de aleatorización:

No requiere.

Recolección de datos

Se diseño formato de captura en Microsoft Excel 19.0

Estadística descriptiva

- Variables categóricas→ porcentajes
- Variables continuas → Normalidad→ medianas, IQR (Rango intercuartílico)

Se realizaron gráficos y tablas con Microsoft Excel 19.0

Análisis filogenético de los aislamientos:

Utilizamos el programa MEGA X para realizar el alineamiento de las secuencias con el algoritmo MUSCLE. Con este alineamiento construimos un árbol filogenético con el método de máxima verosimilitud con el modelo Jukes and Cantor.

La descripción detallada del proceso de identificación de los aislamientos, secuenciación y análisis filogenético se incluyen en el **anexo 2**.



ÉTICA.

De acuerdo a las disposiciones que en materia de investigación se ha publicado en la ley general de salud y en la NOM (Norma Oficial Mexicana) 012-SSA3-2012, se sometió este protocolo para su evaluación por el Comité de Ética en Investigación del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”. Se aprobó y registró con el número: **29-19**.

La carta de aprobación se encuentra en el **Anexo 3**.

Se redactó y entregó una carta de compromiso de confidencialidad de datos, **Anexo 4**.

Se realizó una carta aclaratoria acerca de la cadena de custodia, transporte y procesamiento de las muestras en la Facultad de Medicina de la UASLP. **Anexo 5**.

RESULTADOS

Se reportaron 21 aislamientos de *A. baumannii* correspondientes al periodo de estudio establecido. Se excluyeron 2 muestras para procesamiento como se muestra en el Gráfico 3.

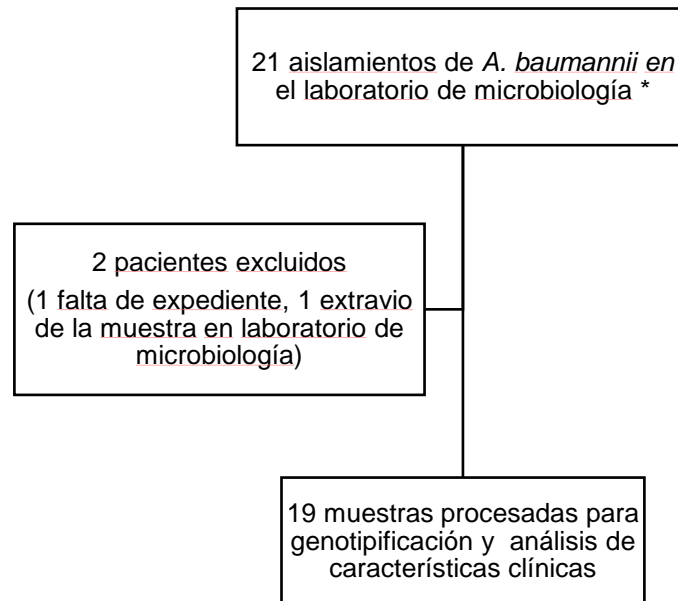


Gráfico 3. Flujograma de los aislamientos

Características de la población:

Las 19 cepas procesadas correspondieron a 14 pacientes distintos con una edad promedio de 39.7 (± 25), años, en su mayoría de sexo masculino (64%), con un índice de comorbilidades de Charlson catalogado como medio (1 ± 1), solo 1 paciente presentó el diagnóstico de Diabetes Mellitus, 7 (50%) estuvieron expuestos a ventilación mecánica y 4 (28%) tuvieron estancia en la UCI antes o al momento del aislamiento. Se encontró 1 aislamiento proveniente de terapia pediátrica y 1 de terapia neonatal. La mayor parte de los pacientes (42%) presentó como motivo de internamiento trauma o heridas por arma de fuego o punzocortante y del total de aislamientos, la mayoría, procedían de áreas afines a la división de cirugía: Cirugía Mujeres 9 (47%) y Quemados 4 (21%). La duración promedio del internamiento de los pacientes fue de 38 (± 15) días, con administración de 3.1 (± 1.4) antibióticos antes del aislamiento. Recibieron tratamiento antibiótico 8 cepas (57%) de acuerdo a la valoración clínica de los pacientes durante su internamiento por lo que fueron

consideradas infectantes. Todos los pacientes tuvieron valoración por el servicio de infectología. Hubo 1 sola defunción, que correspondió a un caso de neumonía asociada a ventilador. 2 de los aislamientos fueron inicialmente reportados como *Alcaligenes faecalis* por Vitek ®2 sin embargo ante el conocimiento de los investigadores del reporte de Kim S. et al⁴⁰, al haberse presentado 1 caso previo de inadecuada tipificación de *A. baumannii* en nuestro hospital y al presentar características de *Acinetobacter* en la microscopia, fueron incluidas el análisis. El resultado de la secuenciación de ambas cepas fue *Acinetobacter*.

Número de Aislamientos diferentes en laboratorio de microbiología	19
Número de pacientes	14
Edad, promedio (DS)	39.7 (+25.8)
Sexo masculino, No (%)	9 (64)
SOFA al momento de toma de cultivo (DS)	5.1 (+4)
Índice de comorbilidades de Charlson (DS)	1 (+1)
Diabetes Mellitus, No (%)	1 (7%)
Hipertensión Arterial Sistémica, No (%)	3 (21%)
Estancia en UCI de adultos, No (%)	4 (28%)
Expuesto a Ventilación Mecánica, No, (%)	7 (50%)
Duración promedio del internamiento en días (DS)	38 (+15)
Promedio de antibióticos antes de aislamiento (rango)	3.1 (+1.4)
Se consideró una cepa infectante, No (%)	12 (63%)
Reporte inicial como <i>Alcaligenes faecalis</i> , No (%)	2 (10%)
Defunción, No (%)	1 (7%)

Tabla 2: Características clínicas de los aislamientos

La procedencia de las muestras fue en su mayor parte de hospitalización quirúrgicas, 10 (52%) de los aislamientos, se encontraron en tejidos blandos, de los cuales sólo 3 (30%) recibieron tratamiento antibiótico. Los aislamientos provenientes de aspirados traqueales, hemocultivos y puntas de catéter recibieron tratamiento en su totalidad.

Motivo de internamiento	
Trauma / herida por arma de fuego / punzocortante, No (%)	6 (42%)
Quemadura, No (%)	2 (14%)
Infección en herida quirúrgica, No (%)	2 (14%)

Otros diagnósticos (IAM, ELA, Producto pretérmino, no especificados), No (%)	4 (28%)
Sala de internamiento, por cepa	
Cirugía Mujeres, No (%)	9 (47%)
Quemados, No (%)	4 (21%)
Cirugía Hombres, No (%)	1 (5%)
Medicina Hombres, No (%)	1 (5%)
Medicina Mujeres, No (%)	1 (5%)
Ginecología y Obstetricia, No (%)	1 (5%)
Terapia Pediátrica, No (%)	1 (5%)
Terapia Neonatal, No (%)	1 (5%)

Tabla 3: Motivo y Sala de Internamiento de los pacientes

La clasificación de la resistencia a antibióticos fue principalmente como XDR en 8 (42%) de los aislamientos, seguidos por PDR en 5 (26%) aislamientos. La resistencia reportada a carbapenémicos fue del 78%.

Sitios de cultivo, No. (%)		
Sitio	Total	Recibieron tratamiento
Tejidos blandos	10 (52%)	3 (30%)
Aspirado traqueal	4 (21%)	4 (100%)
Hemocultivo	3 (15%)	3 (100%)
Punta de catéter	2 (10%)	2 (100%)
Clasificación de resistencia, No. (%)		
XDR	8 (42%)	
PDR	5 (26%)	
PS	4 (21%)	
MDR	1 (5%)	
Resistencias específicas a antibióticos, No. (%)		
Aztreonam	19 (100%)	
Carbapenémicos	15 (78%)	
Cefalosporinas	15 (78%)	
Quinolonas	15 (78%)	
Ampicilina/Sulbactam	12 (63%)	
Tigeciclina	6 (31%)	
Aminoglucósidos	5 (26%)	

Tabla 4: Sitios de cultivo y resistencia a antibióticos de los aislamientos

Los resultados de secuenciación reportaron 5 especies diferentes, siendo la principal *A. baumannii* aislado 09A16CRGN003B en 11 (57%) aislamientos. Cabe destacar que no hubo clonas iguales.

Especies aisladas, No (%)	
1. <i>Acinetobacter baumannii</i> aislado 09A16CRGN003B	11 (57%)
2. <i>Acinetobacter baumannii</i> ZW85-1	3 (15%)
3. <i>Acinetobacter haemolyticus</i>	3 (15%)
4. <i>Acinetobacter baumannii</i> cepa 10324	1 (5%)
5. <i>Acinetobacter</i> sp. NCu2D-2	1 (5%)

Tabla 5: Especies aisladas de *Acinetobacter*

En la tabla 6 se desglosan las características clínicas y resistencias a antibióticos de las 5 especies aisladas.

La especie más aislada (*A. baumannii* aislado 09A16CRGN003B) fue también la que más recibió tratamiento antibiótico, en 8 (72%) de los aislamientos, fue catalogada como XDR en 7 (63%) ocasiones, fue la única asociada a mortalidad en un paciente con neumonía asociada a ventilador y se encontró principalmente en la sala de cirugía mujeres. Tres aislamientos correspondieron con la especie *A. haemolyticus* y 2 (66%) de estos recibieron tratamiento antibiótico. Las especies *A. baumannii* cepa 10324 y *Acinetobacter* sp. NCu2D-2 corresponden a los 2 aislamientos inicialmente reportados como *Alcaligenes faecalis*. Ambas se encontraron en muestras de tejidos blandos, una aislada en la sala de Cirugía Mujeres y la otra en Ginecología y Obstetricia. Las dos tuvieron un comportamiento como colonizante y no recibieron tratamiento antibiótico.

	<i>A. baumannii</i> aislado 09A16CRGN003B	<i>A. baumannii</i> ZW85-1	<i>A. haemolyticus</i>	<i>A. baumannii</i> cepa 10324*	<i>Acinetobacter</i> sp. NCu2D-2*
Número de cepas aisladas	11	3	3	1	1
Número de pacientes diferentes	6	3	3	1	1
Se administro tratamiento antibiótico, No (%)	8 (72%)	2 (66%)	2 (66%)	No	No
Mortalidad (%)	1 (14%)	0	0	0	0
Sala de aislamiento de la cepa (%)	Cirugía mujeres 6 (54%) Quemados 3 (27%)	Cirugía mujeres 1 (33%) Terapia pediátrica 1 (33%)	Cirugía mujeres 1 (33%) Quemados 1 (33%)	Cirugía mujeres	Ginecología y Obstetricia

	Cirugía hombres 1 (9%) Medicina mujeres 1 (9%)	Terapia neonatal 1 (33%)	Medicina Hombres 1 (33%)		
Estancia en UCI de adultos (%)	3 (42%)	0	1 (33%)	No	No
Sitio de aislamiento de la cepa (%)	Tejidos Blandos 6 (54%) Hemocultivo 3 (27%) Aspirado Traqueal 1 (9%) Punta de Catéter 1 (9%)	Aspirado Traqueal 2 (66%) Tejidos blandos 1 (33%)	Aspirado Traqueal 1 (33%) Tejidos blandos 1 (33%) Punta de Catéter 1 (33%)	Tejidos blandos	Tejidos blandos
Resistencia a antibióticos (%)	XDR 7 (63%) PDR 2 (18%) MDR 1 (9%) PS 1 (9%)	PS 2 (66%) PDR 1 (33%)	XDR 1 (33%) PDR 1 (33%) PS 1 (33%)	MDR	PDR
Resistencias específicas a antibióticos (%)	Aztreonam 11 (100%) Carbapenémicos 10 (90%) Cefalosporinas 10 (90%) Quinolonas 10 (90%) Ampicilina/Sulbactam 8 (72%) Tigeciclina 3 (27%) Aminoglucósidos 2 (18%)	Aztreonam 1 (33%) Carbapenémicos 1 (33%) Cefalosporinas 1 (33%) Quinolonas 1 (33%) Ampicilina 1 (33%) Aminoglucósidos 1 (33%) Tigeciclina 0	Aztreonam 3 (100%) Carbapenémicos 3 (100%) Cefalosporinas 3 (100%) Quinolonas 3 (100%) Ampicilina 2 (66%) Aminoglucósidos 1 (33%) Tigeciclina 3 (100%)	Aztreonam Si Carbapenémicos Si Cefalosporinas Si Quinolonas Si Ampicilina Si Aminoglucósidos No Tigeciclina Si	Aztreonam Si Carbapenémicos Si Cefalosporinas Si Quinolonas Si Ampicilina Si Aminoglucósidos Si Tigeciclina No

Tabla 6: Características clínicas y de resistencia de las especies aisladas de *Acinetobacter*

corresponden a los 2 aislamientos inicialmente reportados como *Alcaligenes faecalis

El gráfico 4 muestra el árbol filogenético de las clonas. El análisis de secuencias mostró que los aislamientos de *Acinetobacter* se distribuyen en 2 grandes grupos, por un lado, las cepas de *A. baumannii* aislado 09A16CRGN003B se agrupan en un lado y aquellas de *A. baumannii* ZW85-1 se agrupan en otro. Llama la atención la poca distancia entre los aislamientos de cada tipo y el hecho de que en ningún caso se haya aislado la misma clona de *A. baumannii* en 2 muestras. Nótese la longitud de las ramas de una clona de cada especie, indicativa de procesos de diferenciación evolutiva reciente. Los aislamientos de las 3 especies restantes documentadas se consideraron grupos externos.

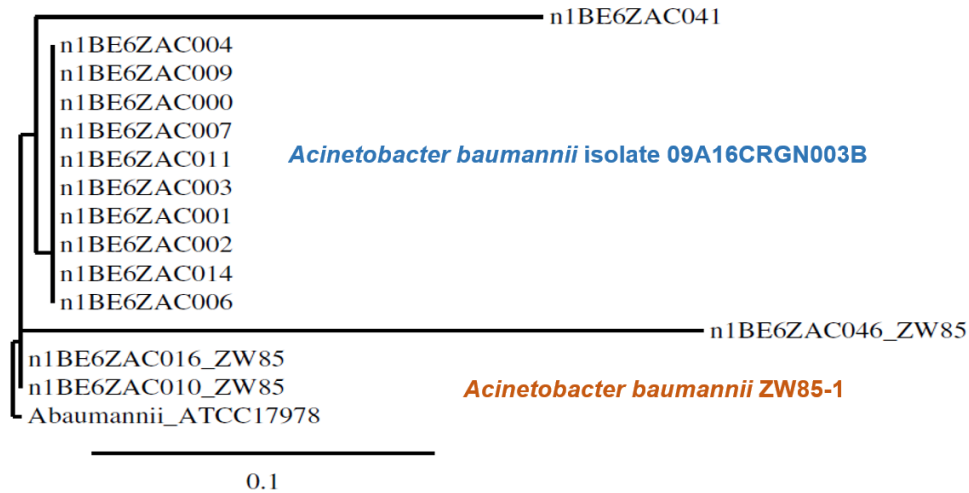


Gráfico 4: Filogenia de los aislamientos mayoritarios de *A. baumannii*.

El gráfico 5 muestra el comportamiento de las especies a lo largo del tiempo de estudio. *A. baumannii* aislado 09A16CRGN003B presentó un brote en diciembre de 2017 y enero de 2018. El último aislamiento de esa especie en el estudio se presentó en abril de 2018 y corresponde con la clona con la rama de mayor longitud de esta especie en el árbol filogenético (n1BE6ZAC041). Hubo 2 aislamientos de *A. baumannii* ZW85-1, que corresponden con los cultivos provenientes de terapia pediátrica y terapia neonatal. Hubo un último aislamiento de esta especie en marzo de 2018 que corresponde con la clona con la rama de mayor longitud de esta especie (n1BE6ZAC046_ZW85).

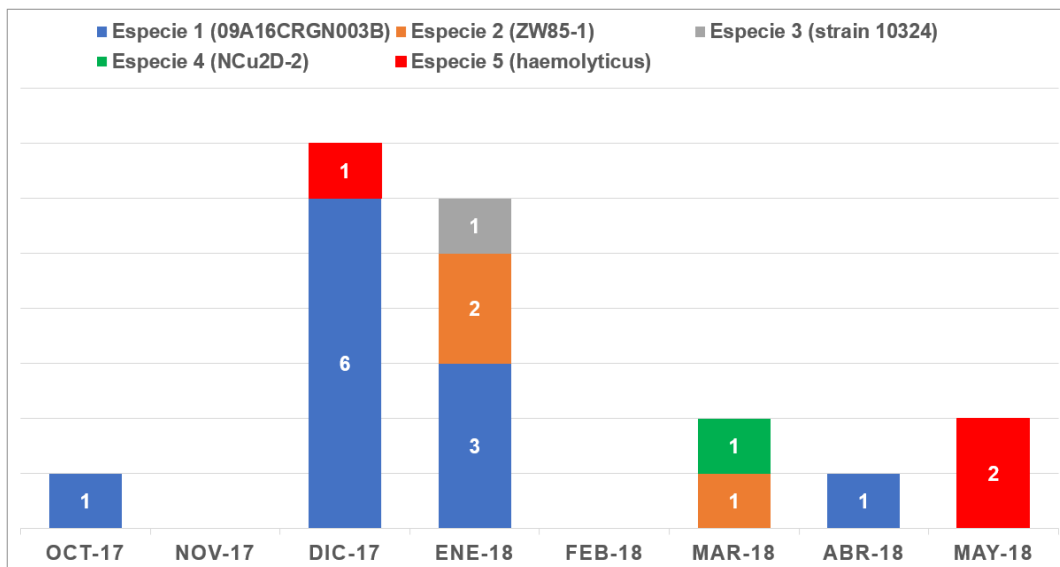


Gráfico 5: Frecuencia de aislamiento de distintas especies según el mes en estudio

En el gráfico 6, donde se reporta la frecuencia de aislamiento de las distintas especies según cuerdo a la sala de hospitalización de los pacientes, se observa como la especie *A. baumannii* aislado 09A16CRGN003B fue aislada en su mayoría en salas del servicio de Cirugía, particularmente Cirugía Mujeres y Quemados, con un solo aislamiento fuera de este servicio en Medicina Mujeres. La sala con más aislamientos en total fue Cirugía Mujeres. *A. baumannii* ZW85-1 se encontró en salas del servicio de Pediatría en 2 de 3 aislamientos, el tercero también se encontró en Cirugía Mujeres. *A. haemolyticus* se encontró en 3 salas de hospitalización distintas, Cirugía Mujeres, Medicina Hombres y Quemados. Las otras dos especies, que se aislaron en cultivos de tejidos blandos y no recibieron tratamiento específico para *Acinetobacter*, *Acinetobacter baumannii* cepa 10324 y *Acinetobacter* sp. NCu2D-2 fueron aisladas en las salas de Cirugía Mujeres, y Ginecología y Obstetricia respectivamente.

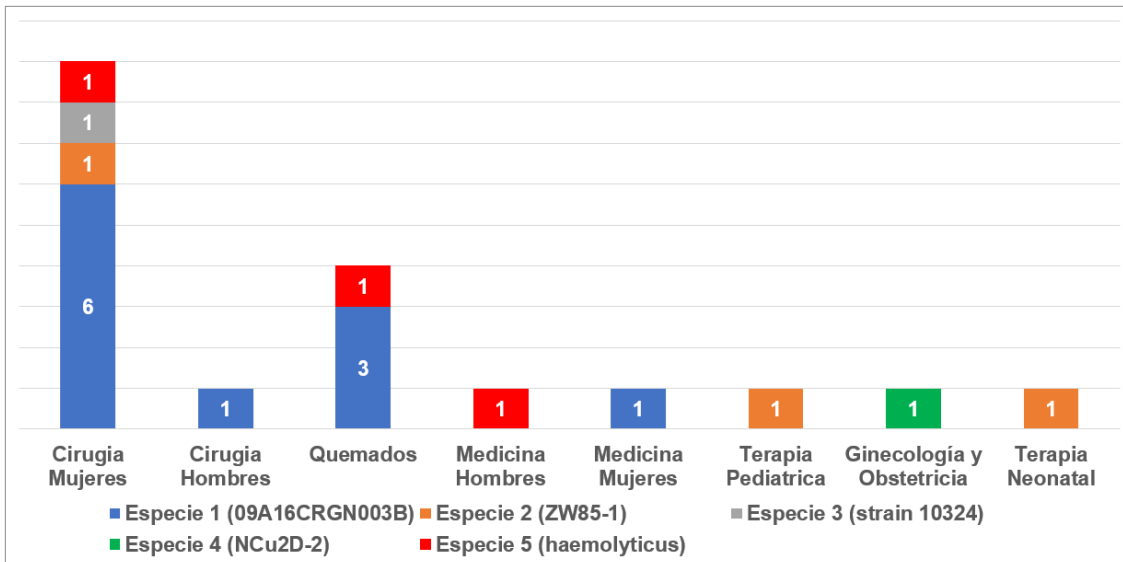


Gráfico 6: Frecuencia de aislamiento de las distintas especies según a la sala de hospitalización de los pacientes

DISCUSIÓN.

No hubo clonas idénticas en el análisis de 19 aislamientos de *A. baumannii* en este estudio. Esto puede indicar 2 cosas: 1. La gran diversidad de cepas de *A. baumannii* que circulan en el hospital y que infectan a los pacientes o 2. La elevada tasa de mutación de los aislamientos de *A. baumannii* que se encuentran en pacientes atendidos en el hospital.

Como se mencionó en los antecedentes, *A. baumannii* demuestra genomas altamente divergentes¹⁵, una sola rama recientemente derivada puede exhibir significativa diversidad genotípica y fenotípica¹⁶

En el árbol filogenético realizado se puede observar una importante longitud de las ramas de algunas clonas, indicativa de procesos de diferenciación evolutiva reciente¹⁶.

Sin embargo, a pesar de que estos hallazgos pudieran sugerir procesos de mutación como explicación de las diversas clonas, existe la limitante de la cantidad de muestras estudiadas, que fueron obtenidas de forma retrospectiva de cultivos en su mayoría provenientes de la piel.

Los hallazgos de Quale J. et al³¹. Mostraron que solo 2 cepas causaron la mayor parte de los brotes en 18 hospitales distintos en la ciudad de Nueva York. Dicho estudio no evaluó variantes clonales, sino que fueron evaluados polimorfismos a través de ribotyping. La intención de nuestro estudio fue evaluar clonas.

En el estudio más similar al nuestro realizado en el Hospital General de México, se analizaron 112 muestras de aislamientos de *A. baumannii*, se identificaron 11 clonas diferentes y una clona en específico fue la causante de la mayoría de los brotes³² A diferencia de nuestro estudio, incluyeron sólo a pacientes en los que se establecieron los diagnósticos de infecciones nosocomiales, estudiando sólo una cepa por paciente y únicamente aislamientos categorizados como MDR.

Las características de los pacientes susceptibles a este tipo de bacteria, concuerdan con los reportados en la literatura^{4,5}, se trató de pacientes con internamientos prolongados, con estancia en áreas de terapia intensiva, expuestos a múltiples antibióticos y a ventilación mecánica.

Cabe destacar que la resistencia a antibióticos es similar a la reportada el último estudio publicado en el Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto en 2014³³. La cantidad de aislamientos categorizados como XDR cambio del 45% a 42%, y PDR del 20% al 26%³³.

Se encontraron 5 especies diferentes de *Acinetobacter*, todas ya descritas en la literatura y solo 3 descritas previamente como virulentas^{45,46,47,48}.

A. baumannii aislado 09A16CRGN003B⁴³ fue descrita por primera vez en Canadá en 2018. En nuestro hospital se comportó como la especie más virulenta, se asoció al mayor índice de administración de antibióticos y fue la única asociada a mortalidad. Su frecuencia de aislamiento en la sala de Cirugía Mujeres nos indica que es probable que exista un sitio reservorio de la bacteria en este lugar, aunque también es importante destacar las características de esta sala de hospitalización. Es el sitio donde se encuentran los pacientes más graves de la división de cirugía, cuenta con 4 cuartos privados, a donde suelen ingresar pacientes críticos o con manejo invasivo de la vía aérea y además la mayor parte de los pacientes que egresan de la UCI de adultos pasan a estos cuartos en específico, por lo que el tipo de pacientes pudiera influir también en la selección de las especies.

La segunda especie más aislada, *Acinetobacter baumannii* ZW85-1, fue secuenciada por primera vez en China en 2014⁴⁴. Se ha establecido que uno de los plásmidos de esta especie presenta genes que codifican para la metalo- β -lactamasa NDM-1, que puede hidrolizar una gran cantidad de antibióticos⁴⁴. En nuestro hospital fue la especie que se encontró en 2 ocasiones en salas de pediatría y ambas recibieron tratamiento para neumonía nosocomial. Los casos de neumonía por *Acinetobacter* en salas de pediatría suelen ser escasos, de acuerdo a UVEPCIN 1.5 por año en 2016-2017³⁴. La última clona de esta especie fue encontrada en la sala de cirugía mujeres, lo que nos muestra como una especie puede encontrarse en salas distintas. Si bien no podemos establecer conclusiones ya que no se realizó la búsqueda de reservorios específicos, sabemos que *A. baumannii* puede encontrarse en distintas superficies en el hospital y en narinas y manos del personal^{36,37}.

A. haemolyticus es una especie que suele considerarse ambiental, puede encontrarse en manos y superficies, habitualmente es considerada colonización y puede ser virulenta en pacientes susceptibles⁴⁵. Existen reportes de casos de disentería e infecciones nosocomiales asociadas a éste germen y se ha reportado la capacidad de exhibir resistencia a carbapenémicos mediada por la carbapenemasa OXA-40^{45,46}. Fue aislada en nuestro hospital y requirió tratamiento en un caso de neumonía asociada a ventilador y otro de infección asociada a catéter, el tercer aislamiento de esta especie se comportó como colonizante.

Las últimas dos especies fueron consideradas colonización. De acuerdo a los expedientes clínicos revisados, ambas muestras fueron tomadas con medios de cultivo Stuart bajo la sospecha de infecciones de herida quirúrgica. En ambas hubo valoración por infectología y aunque la resistencia a antibióticos reportada fue MDR y PDR, los dos casos mejoraron con esquemas antibióticos alternos, sin cobertura para *Acinetobacter*. Además, ambas fueron reportadas inicialmente como *Alcaligenes faecalis* lo que pudo contribuir a que la sospecha inicial fuera colonización.

Se deben de mejorar las técnicas de cultivo de piel y tejidos blandos en nuestro hospital, así como la selección de pacientes a los que se tomarán esta clase de cultivos y debe de considerarse la posibilidad de colonización en dichos aislamientos.

Acinetobacter sp. NCu2D-2 no ha sido descrita como virulenta y fue secuenciada por primera vez proveniente de la tráquea de un ratón⁴⁷ y *A. baumannii* cepa 10324 fue secuenciada por primera vez en 2017 en Morelos, México, no está reportado si la cepa secuenciada fue causante de infección⁴⁸.

Estas dos especies fueron las reportadas inicialmente como *Alcaligenes faecalis*. Como se mencionó previamente ya se había conocía de este error en la tipificación⁴⁰ y se había documentado también en nuestro hospital, en ambas ocasiones se confirmó que se trataba de *Acinetobacter* mediante MALDI-TOF. La sospecha inicial de este error de tipificación en el hospital fue realizada por el personal del laboratorio de microbiología, ante las características microscópicas y

de las colonias en medios de cultivo. Se realizó el reporte al proveedor del sistema Vitek de nuestro hospital.

Kim S. et al. se atribuyeron como probable explicación de este fenómeno al hecho de que las cepas mal identificadas presentaron periodos de incubación más lentos que el de una cepa típica de *A. baumannii*, permitiendo que Vitek ® interpretara como negativas características bioquímicas antes de que estas reacciones fueran completadas en el sistema⁴⁰. Sin embargo, no fue posible establecer cual fue la causa de este periodo de incubación más prolongado.

La genotipificación en esta ocasión nos permitió corroborar que se trataban de cepas de *Acinetobacter*, si bien es un método de identificación más lento que Vitek ® es el estándar para documentar este tipo de errores y el nuestro es el primer reporte confirmado mediante este método. En casos donde haya dudas del resultado de un cultivo pueden intentarse otros métodos de identificación rápida como MALDI-TOF. Los métodos de identificación bacteriana convencionales siguen siendo importantes para la adecuada identificación de gérmenes en nuestro laboratorio.

LIMITACIONES Y/O NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN.

Fortalezas:

- Se utilizó la secuenciación de clonas para evaluar los aislamientos.
- Se obtuvieron todos los datos de los aislamientos procesados.
- Brinda información situacional del comportamiento de la bacteria en nuestro medio.

Limitaciones:

- Estudio retrospectivo.
- Selección de muestras sin diagnóstico de infección nosocomial.
- Periodo de inclusión de aislamientos corto.
- Gran parte de los aislamientos correspondieron a cepas colonizantes provenientes de piel y tejidos blandos.
- No se realizó la búsqueda de sitios reservorio.

Este estudio permitió establecer relaciones con nuevos investigadores, y nos ayudará a abrir una línea de investigación que tratará de establecer asociaciones entre las clonas y fuentes reservorio de la bacteria, así como en investigaciones futuras tratar de establecer relación entre la gravedad o el impacto económico de la enfermedad y clonas circulantes o especies específicas y realizar estudios que incluyan genotipificación de otros tipos de gérmenes.

CONCLUSIONES.

1. Las bacterias del género *Acinetobacter* se encontraron en diversas salas de hospitalización, el servicio con más aislamientos es Cirugía y la sala con más aislamientos Cirugía Mujeres.
2. No hubo clonas idénticas y se encontraron 5 especies diferentes en el periodo de estudio, todas ya documentadas previamente en la literatura.
3. Una de estas especies, encontrada en salas de cirugía, fue la más frecuentemente aislada, la más virulenta y la única asociada a mortalidad.
4. Se debe de hacer énfasis en las medidas de prevención de transmisión bacteriana, incluyendo la búsqueda de sitios reservorio, principalmente en salas de cirugía.
5. Lo métodos de cultivo automatizados son susceptibles a errores, en este caso 2 aislamientos fueron considerados inicialmente una bacteria distinta.
6. Debe de considerarse la posibilidad de colonización al aislarse *Acinetobacter* en cultivos de piel y tejidos blandos en nuestro hospital.
7. Se deben de mejorar las técnicas de cultivo de piel y tejidos blandos en nuestro hospital, así como la selección de pacientes a los que se tomarán esta clase de muestras.
8. El índice de resistencia a antibióticos de *A. baumannii* en nuestro hospital es alto, la resistencia a carbapenémicos es de 78%, en este estudio se catalogaron como XDR 42% y PDR 26% de los aislamientos.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Bouvet P, Grimont A, Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov., *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov., *Acinetobacter johnsonii* sp. nov., and *Acinetobacter junii* sp. nov., and emended description of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*. Int. J. Syst. Bacteriol. 1986;36:228–240.
2. Valentine SC. et al. Phenotypic and molecular characterization of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from nosocomial outbreaks in Los Angeles County, California. J Clin Microbiol. 2008 Aug;46(8):2499-507
3. Lee B. et al. Economic Impact of *Acinetobacter baumannii* Infection in the Intensive Care Unit. Infect Control Hosp Epidemiol. 2010;31(10): 1087–1089.
4. Bergogne-Berezin E. et al. *Acinetobacter spp.* as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clin. Microbiol. Rev. 1995;9:148–165.
5. Zilberberg M et al. Multidrug resistance, inappropriate empiric therapy, and hospital mortality in *Acinetobacter baumannii* pneumonia and sepsis. J Hosp Med. 2016 Jan;11(1):21-6
6. Seifert H et al. The distribution of *Acinetobacter* species in clinical culture materials. Zentralbl. Bakteriol. 1993;279:544–552, 1993
7. Villegas, M. *Acinetobacter* outbreaks, 1977–2000. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 2003;24:284–295.
8. Seifert H. et al. Distribution of *Acinetobacter* species on human skin: comparison of phenotypic and genotypic identification methods. J. Clin. Microbiol. 1997;35:2819–2825.
9. Baumann P. Isolation of *Acinetobacter* from soil and water. J. Bacteriol. 1968;96:39–42.
10. Baum, D. et al. Reading a Phylogenetic Tree; The Meaning of Monophyletic Groups. Nature Education 2008; 1(1):190.
11. Sahl J. et al. Phylogenetic and genomic diversity in isolates from the global distributed *Acinetobacter baumannii* ST25 lineage, Sci. Rep. 2015; 5: 15188
12. Jukes T, Cantor CR, Evolution of protein molecules, New York: Academic Press. 1969, 21–132.
13. Snitkin ES. et al. Genome-wide recombination drives diversification of epidemic strains of *Acinetobacter baumannii*. Proc Natl Acad Scim USA 108,13758-13763
14. Imperi, F. et al. The genomics of *Acinetobacter baumannii*: insights into genome plasticity, antimicrobial resistance and pathogenicity. IUBMB life 63, 1068-1074.

15. Zarrilli R. et al. A global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. International Journal of antimicrobial agents 41, 11-19
16. Sahl J. et al. Phylogenetic and genomic diversity in isolates from the global distributed *Acinetobacter baumannii* ST25 lineage, Sci. Rep. 2015; 5: 15188
17. Sahl, J. W. et al. Evolution of a pathogen: a comparative genomic analysis identifies a genetic pathway to pathogenesis in *Acinetobacter*. PLoS ONE 8, e54287
18. Turton, JF. et al. The Role of ISAba1 in expresión of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. FEMS Microbiol Lett 258, 72-77
19. Magiokaros AP et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect 2012; 18:268
20. Bouvet PJ. et al. Identification and biotyping of clinical Isolates of *Acinetobacter*. Ann Inst Pasteur Microbiol, 1987 Sep-Oct.
21. Wisplinghoff H, et al. Nosocomial bloodstream infections caused by *Acinetobacter* species in United States hospitals: clinical features, molecular epidemiology, and antimicrobial susceptibility. Clin. Infect. Dis. 2000;31:690–697.
22. Fournier P, The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. Clin. Infect. Dis. 2006;42:692–699.
23. Hartstein, A. Plasmid DNA fingerprinting of *Acinetobacter calcoaceticus* subspecies anitratus from intubated and mechanically ventilated patients. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 1990;11:531–538.
24. Brisse S. et al. Molecular surveillance of European quinolone-resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. using automated ribotyping. J. Clin. Microbiol. 2000;38:3636–3645.
25. Gouby A. et al.. Use of pulsed-field gel electrophoresis for investigation of hospital outbreaks of *Acinetobacter baumannii*. J. Clin. Microbiol. 1992;30:1588–1591
26. Graser Y. et al. Epidemiological study of an *Acinetobacter baumannii* outbreak by using polymerase chain reaction fingerprinting .J. Clin. Microbiol. 1993;31:2417–2420.
27. Snelling A. et al. Validation of use of whole-cell repetitive extragenic palindromic sequence-based PCR (REP-PCR) for typing strains belonging to the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex and application of the method to the investigation of a hospital outbreak. J. Clin. Microbiol. 1993;34:1193–1202.

28. Bartual S. et al. Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. J. Clin. Microbiol. 2005;43:4382–4390.
29. Ecker, J. A. et al. Identification of *Acinetobacter* species and genotyping of *Acinetobacter baumannii* by multilocus PCR and mass spectrometry. J. Clin. Microbiol. 2006;44:2921–2932
30. Villegas, M. *Acinetobacter* outbreaks, 1977–2000. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 2003;24:284–295.
31. Quale J. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* endemic in New York City. Clin. Infect. Dis. 2003;37:214–220
32. Rosales-Reyes R. et al, Virulence profiles and innate immune responses against highly lethal, multidrug-resistant nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii* from a tertiary care hospital in México. PLoS ONE 2017;12(8): e0182899
33. Araujo-Melendez J. et al Bacteremia nosocomial, descripción situacional en hospital de tercer nivel. Enferm Infecc Microbiol Clin 2015;38(3):101-104
34. Araujo-Melendez J. et al. Reporte de la Unidad de Vigilancia Epidemiológica y Control de Infecciones Nosocomiales del Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto. Diciembre 2019.
35. Fournier P, The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. Clin. Infect. Dis. 2006;42:692–699.
36. Neely A, Computer keyboards as reservoirs for *Acinetobacter baumannii* in a burn hospital. Clin. Infect. Dis. 2009;29:1358–1360
37. Bayuga S. Prevalence and antimicrobial patterns of *Acinetobacter baumannii* on hands and nares of hospital personnel and patients: the iceberg phenomenon again. Heart Lung 2002;31:382–390
38. BioMérieux Página del proveedor. Acceso 14 de diciembre de 2019, Disponible en: <http://www.biomeriux-usa.com/vitek-2>
39. Castellanos-Crus M. et al. Identificación y susceptibilidad bacteriana utilizando equipo automatizado Vitek 2 XL en el Laboratorio del Hospital Infantil de México. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab 2017; 64 (1); 50-53
40. Kim S. et al. Misidentification of *Acinetobacter baumannii* as *Alcaligenes faecalis* by VITEK 2 System; Case Report. Laboratory Medicine 49:1:e14–e17
41. Durante-Mangoni E. et al. Acute Kidney Injury during colistin therapy: a prospective study in patients with extensively-drug resistant *Acinetobacter baumannii* infections. Clin Microbiol Infect. 2016 Dec;22(12):984-989

42. Jefatura de Almacén. Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto. Consultado diciembre de 2019.
43. Boyd DA. et al. Results from the Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program for detection of carbapenemase-producing *Acinetobacter* spp. in Canadian hospitals, 2010-16 J Antimicrob Chemother. 2019 Feb 1;74(2):315-320
44. Wang, X., Zhang, Z., Hao, Q., Wu, J., Xiao, J., & Jing, H. Complete Genome Sequence of *Acinetobacter baumannii* ZW85-1. Genome Announcements, 2014. 2(1).
45. Grotiuz, G., Sirok, A., Gadea, P., Varela, G., & Schelotto, F. Shiga Toxin 2-Producing *Acinetobacter haemolyticus* Associated with a Case of Bloody Diarrhea. Journal of Clinical Microbiology, 2006: 44(10), 3838–3841
46. Quinteira, S., Grosso, F. et al. Molecular Epidemiology of Imipenem-Resistant *Acinetobacter haemolyticus* and *Acinetobacter baumannii* Isolates Carrying Plasmid-Mediated OXA-40 from a Portuguese Hospital. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2007: 51(9), 3465–3466.
47. Blaschke U. et al. Complete Genome Sequence of *Acinetobacter* sp. Strain NCu2D-2 Isolated from a Mouse, Genome Announc. 2017 Jan; 5(4): e01415-16.
48. Genbank, *Acinetobacter baumannii* strain 10324 plasmid pAba10324c, complete sequence. Fecha de acceso 9 de enero de 2019. Disponible en: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/NZ_CP023025.1?report=genbank&log\\$=seqview](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/NZ_CP023025.1?report=genbank&log$=seqview)

ANEXOS

Anexo 1.

Cuadro de variables. Variables independientes.				
Variable	Definición operacional	Valores posibles	Unidades	Tipo de variable
Clona de <i>A. baumannii</i>	Tipo de clona documentada mediante genotipificación	Dependerán de resultados aislados (1), (2), etc...	Número entero	Cualitativa ordinal
SOFA al momento del cultivo de la muestra	SOFA es el acrónimo en inglés de Sequential Organ Failure Assessment score. Es una escala utilizada para seguir el estado del paciente durante su estadía en hospitalización, utiliza seis puntuaciones para medir diferentes sistemas críticos del paciente: respiratorio, cardiovascular, hepático, coagulación, renal y neurológico, toma en cuenta la relación PaO ₂ /FiO ₂ , la escala de coma de Glasgow, nivel de plaquetas, nivel de bilirrubina, tensión arterial y creatinina o flujo urinario).	Posible de 0 a 24 puntos	Número entero	Numérica
Sitio de aislamiento de la cepa	Sitio anatómico de procedencia del aislamiento bacteriano de <i>A. baumannii</i> en el paciente en estudio	Vías respiratorias (1), sangre (2), piel y tejidos blandos (3), catéter o dispositivo (4), otra (5)	Número entero	Cualitativa ordinal
Inmunosupresión	Presencia de factores causantes de inmunosupresión en el definido como la presencia de cualquiera de las siguientes: Uso de corticoesteroides, otras enfermedades	(1) Si (0) No	-	Dicotómica categórica

	asociadas a inmunosupresión celular, uso de inmunomoduladores, uso de quimioterapia			
Resistencia a antibióticos	Resistencia a antibióticos documentada por antibiograma reportado por laboratorio	Multidrogo resistente MDR (1), resistencia extendida XDR (2), pandrogoresistente PDR (3), pansusceptible (4)	Número entero	Cualitativa ordinal
Edad	Valor obtenido a partir de la fecha de nacimiento del paciente a la fecha de inclusión, documentada por expediente	0-100	Número entero	Numérica
Sexo	Dato obtenido del expediente acerca de la característica fenotípica de ser hombre o mujer	Masculino (1) o femenino (2)	Número entero	Nominal dicotómica
Hipertensión Arterial	Diagnóstico concurrente de hipertensión arterial	Si (1) No (0)	-	Nominal dicotómica
Diabetes Mellitus	Diagnóstico concurrente de diabetes mellitus	Si (1) No (0)	-	Nominal dicotómica
Índice de comorbilidades de Charlson	Índice de comorbilidad que relaciona con mortalidad a largo plazo	0: Bajo 1-2: Medio 3-4: Alta 5 o más: Muy alta	Número entero	Cualitativa ordinal
Defunción	Estado del paciente durante el internamiento. Si murió delimitar fecha y causa de muerte.	Vivo (1) Muerto (0)	-	Nominal dicotómica
Sala de aislamiento de la cepa	Sala de internamiento al momento de la toma de cultivo	(1) Cirugía mujeres (2) Terapia intensiva (3) Cirugía hombres (4) Quemados (5) Medicina hombres (6) Medicina mujeres (7) Terapia pediátrica (8) Ginecología y obstetricia (9) Neonatología (10) Pediatría	Número entero	Cualitativa ordinal
Estancia en UCI	Cursó con estancia en terapia intensiva antes o al momento del aislamiento	Si (1) No (0)	-	Nominal dicotómica

Número de antibióticos previos	Número de antibióticos previos durante la hospitalización al momento del cultivo positivo para <i>Acinetobacter</i>	0-10	Número entero	Numérica
Número de antibióticos recibidos para <i>Acinetobacter</i>	Cantidad de antibióticos administrados para el tratamiento de <i>Acinetobacter</i>	0-10	Número entero	Numérica
Antibióticos recibidos para <i>Acinetobacter</i>	Tipo de antibióticos administrados para el tratamiento de <i>Acinetobacter</i>	(1) Meropenem (2) Tigeciclina (3) Colistina (4) Imipenem (5) Amikacina (6) Piperacilina tazobactam (7) Ciprofloxacino (8) Gentamicina (9) Trimetoprim Sulfametoxazol	Número entero	Cualitativa ordinal
Días de estancia hospitalaria	Días totales de estancia hospitalaria	0-150	Número entero	Numérica
Ventilación mecánica	Requirió ventilación mecánica durante la hospitalización	Si (1) No (0)	-	Nominal dicotómica
Falla Renal	Cursó con falla renal durante el internamiento	Si (1) No (0)	-	Nominal dicotómica
PCR	Nivel sérico de Proteína C Reactiva al momento de la toma de cultivo	0-100	mg/dL	Numérica

Anexo 2. Descripción técnica del proceso de secuenciación y análisis filogenético de los aislamientos.

Colección de especímenes, y fenotipificación de aislamientos de *Acinetobacter* spp.

Obtuvimos 19 muestras de pacientes hospitalizado provenientes del laboratorio de microbiología del Hospital Central, en donde fueron analizadas mediante técnicas tintoriales, morfológicas, de desarrollo y bioquímico-enzimáticas automatizadas habituales para el aislamiento identificación y determinación de patrón de resistencia a los antimicrobianos en *Acinetobacter baumannii*. (Vitek®2),

Extracción de ADN y PCR

Los aislamientos identificados como *Acinetobacter* spp fueron colocados en hisopos con medio de transporte Stuart para su traslado al laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Medicina UASLP. Estas muestras fueron sembradas en agar de MacConkey mediante la técnica de agotamiento e incubadas a 37°C durante 24h. Pasado el tiempo de incubación, se tomaron de 5 a 10 colonias de cada cultivo y se resuspendieron en 500µl de PBS estéril. Esta suspensión fue centrifugada a 12000 rpm durante 3 minutos y fue resuspendida por pipeteo en 200µl de buffer de lisis (Tris-Acetato 40mM, Acetato de sodio 20mM, EDTA1mM y SDS1%, pH7.8). A esta mezcla se añadieron 66 µl de NaCl 5M para remover la mayor cantidad de proteínas. Las muestras lisadas fueron centrifugadas a 12000rpm durante 10 minutos a 4°C.

El sobrenadante resultante de la lisis fue sometido a extracción con Fenol-Cloroformo-Alcohol isoamílico y precipitado con Etanol mediante la técnica de rutina. El ADN extraído se resuspendió en buffer TE1x estéril y almacenado en ultracongelador hasta su uso.

Para la PCR, empleamos la pareja de oligos Ac696F (5'-TAYCGYAAAGAYTTGAAAGAAG-3') y Ac1093R (5'-CMACACCYTTGTTMCCRTGA-3') (T4Oligo, Irapuato, México) dirigidos hacia una región hipervariable del gen *rpoB* de *A. baumannii*. Empleamos el kit para PCR Invitrogen (Invitrogen, Massachusetts, USA) para preparar mezclas de 50 µl que contenían Buffer 1x, dNTP 200 µM, MgCl₂ 2mM, Oligonucleótidos 20 pM y 5 UI de Taq polimerasa y 50 ng de ADN. Estas mezclas se colocaron en un Termociclador Multigene Optimax (LabNET, California, USA). El programa empleado para amplificación consistió en 10 min de desnaturalización inicial a 94°C, 35 ciclos de 60 seg a 94°C, 30 seg a 55°C, 60 seg a 72°C y una extensión final de 5 min a 72°C. Los productos de PCR fueron purificados mediante precipitación con acetato de sodio 3M e isopropanol en frío, lavados con etanol al 70% y resuspendidos en buffer TE1x. La concentración de los amplicones se ajustó a 50 ng/µl con buffer TE 1x (pH 8.0). La pureza de los amplicones así como la concentración de éstos fue determinada mediante espectrofotometría.

Identificación de aislamientos mediante secuenciación de productos de PCR

Se prepararon mezclas con 5 µl del amplicón de PCR purificado y 5 µl del oligo Ac696F y se enviaron a secuenciación mediante el método de Sanger (Macrogen inc., Seoul, Republica de Korea).

Para establecer la identidad de los tipos virales, se realizó el alineamiento de las secuencias de los productos de PCR en la colección de nucleótidos de la base de datos del NCBI utilizando el programa Mega BLAST (Altschul, Gish, Miller, Myers, & Lipman, 1990). La identificación de una secuencia mediante alineamiento de nucleótidos se dio por válida si cumplía con los siguientes criterios en el alineamiento: Porcentaje de identidad $\geq 99\%$, Valor E $\leq 1 \times 10^{-10}$ y Porcentaje de cobertura del alineamiento $\geq 99\%$ como criterios principales para identificar las secuencias en los alineamientos.

Análisis filogenético de los aislamientos

Realizamos una comparación entre la secuencia de los amplicones y la secuencia modelo de *A. baumannii* cepa ATCC 17978 disponible en Genbank (Accesion No.: NZ_CP018664.1)(Benson et al., 2012) para construir el árbol filogenético de los aislamientos de *Acinetobacter*.

Utilizamos el programa MEGAX (Kumar, Stecher, Li, Knyaz, & Tamura, 2018) para realizar el alineamiento de las secuencias con el algoritmo MUSCLE (Edgar, 2004). Con este alineamiento construimos un árbol filogenético con el método de máxima verosimilitud con el modelo Jukes and Cantor (Jukes & Cantor, 1969)



Anexo 3. Carta de aprobación por los comités de Investigación y de Ética en Investigación



San Luis Potosí, S.L.P., a 24 de abril de 2019

Dr. Javier Araujo Meléndez, Investigador principal
Dr. Pedro Gudiño Bravo, Tesista
PRESENTE.-

Por este medio se le comunica que su protocolo de investigación titulado **“Genotipificación de clonas circulantes de Acinetobacter baumannii en el Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” durante el año 2018”**, fue evaluado por el Comité de Investigación, con Registro en COFEPRIS 17 CI 24 028 093, así como por el Comité de Ética en Investigación de esta Institución con Registro CONBIOETICA-24-CEI-001-20160427, y fue dictaminado como:


APROBADO

El número de registro es **29-19**, el cual deberá agregar a la documentación subsecuente, que presente a ambos comités.

La vigencia de ejecución de este protocolo es por 1 año a partir de la fecha de emisión de este oficio, de igual forma pido sea tan amable de comunicar a los Comités de Investigación y de Ética en Investigación: la fecha de inicio de su proyecto, la evolución y el informe técnico final.

*Se le recuerda que todos los pacientes que participen en el estudio deben firmar la versión sellada del formato de consentimiento informado.

Atentamente


Dra. Ma. Del Pilar Fonseca Leal
Sub-Directora de Educación e Investigación en Salud
Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”



C.C.P. Archivo

Av. Venustiano Carranza No. 2395
Zona Universitaria
San Luis Potosí, S.L.P. C.P. 78290
Tel. 01 (444) 198-10-00
www.hospitalcentral.gob.mx
www.slp.gob.mx



Anexo 4. Carta compromiso de confidencialidad de datos.

CARTA COMPROMISO DE CONFIDENCIALIDAD DE DATOS

Dr. Francisco Alcocer Gouyonnet
Director General del Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto"

Hacemos constar:

Que se realizará el Proyecto de investigación titulado: "**Genotipificación de clonas circulantes de *Acinetobacter baumannii* en el Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto" durante el año 2018**". siguiendo lo establecido en el Proyecto de Investigación autorizado por los Comités de Ética en Investigación e Investigación del Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto".

Que nos comprometemos a mantener una estricta confidencialidad de los datos personales procedentes del expediente, que constarán de la edad, sexo, motivo de internamiento, antecedentes personales patológicos, variables clínicas y de laboratorio (biometría hemática, química sanguínea, pruebas de funcionamiento hepático, gasometría arterial), así como causa de defunción en caso de ser requerido.

Los resultados obtenidos de dicho Proyecto de investigación podrán ser divulgados en congresos, reuniones y publicaciones científicas salvaguardando siempre la confidencialidad de los datos personales.

Que dicho estudio se llevará a cabo contando con la colaboración de los Dres. Javier Araujo Meléndez, Dra. Mariana Salgado Bustamante, Dr. Arturo Ortiz Álvarez, MBM Alan Ytzeen Martínez Castellanos, Dr Pedro Gudiño Bravo

San Luis Potosí, S. L. P., 26 de Marzo de 2019

Dr. Pedro Gudiño Bravo

Investigador principal

Dr. Javier Araujo Meléndez

Director de Tesis

Dra. Mariana Salgado Bustamante

Asesor Metodológico

Anexo 5. Carta aclaratoria acerca de la cadena de custodia, transporte y procesamiento de las muestras en la Facultad de Medicina de la UASLP.



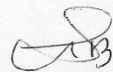
San Luis Potosí, S.L.P. a 14 agosto 2018

Dr. Emmanuel Rivera López
Comité de ética en Investigación
Presente.-

Por medio de la presente me permito aclarar que las muestras de aislamientos clínicos de la bacteria *A. Baumannii* del protocolo de investigación titulado "**Relación entre el genotipo de clonas de *Acinetobacter baumannii* circulants en el Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto"** y la gravedad de la infección determinada por escala SOFA" Serán debidamente transportadas en medio de transporte Stuart, que de acuerdo con la literatura es un medio adecuado para el transporte seguro de las bacterias. Adicionalmente, la cadena de custodia de las muestras será llevada a cabo por personal de salud debidamente capacitado, en cajas debidamente aisladas que evitan la contaminación y diseminación durante el trayecto. El transporte de las muestras que será del Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto" a la Facultad de Medicina se realizará bajo un protocolo de seguridad donde no se abrirán las cajas que contienen los tubos de medio de transporte sellados. En la facultad de medicina se cuenta con la infraestructura adecuada para el tratamiento de las muestras, ya que serán inactivadas en campana de seguridad solamente para el aislamiento de ácidos nucleicos de acuerdo con el protocolo descrito en el proyecto.

Agradeciendo de antemano la atención que sirva tener a la presente aclaración quedo a sus órdenes,

Atentamente



Dra. Mariana Salgado Bustamante
Profesor-Investigador tiempo completo V
Facultad de Medicina, UASLP



FACULTAD DE
MEDICINA

Av. Venustiano Carranza 2405
CP 78210 • San Luis Potosí, S.L.P.
tel. (444) 826 2344 al 49
tel. Dirección (444) 826 2350
fax (444) 826 2352
www.uaslp.mx