

11219



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y  
NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE STAPHYLOCOCCUS  
AUREUS RESISTENTE A METICILINA EN UN HOSPITAL DE  
TERCER NIVEL

# TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
ESPECIALISTA EN INFECTOLOGÍA

P R E S E N T A :  
SANTIAGO PEREZ PATRIGEON

TUTOR DE TESIS:  
JOSE SIFUENTES OSORNIO

ASESORES DE TESIS:  
ALFREDO PONCE DE LEÓN  
GUILLERMO M. RUIZ-PALACIOS Y SANTOS  
JUDITH MIRIAM BOBADILLA DEL VALLE  
ARTURO GALINDO FRAGA



MÉXICO, D.F.

2005

0349555



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo *recopila*.  
NOMBRE: Salvador Pérez Parricón

FECHA: 7/10/05

FIRMA: [Signature]

HOJA DE FIRMAS



[Signature]

**INCMNSZ**  
INSTITUTO NACIONAL  
DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN  
"DR. SALVADOR ZUBIRÁN"  
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA  
México, D.F.

Dr. Luis Federico Uscanga Domínguez  
Director de Enseñanza  
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición

[Signature]

Dr. Guillermo M. Ruiz-Palacios y Santos  
Profesor titular del curso de Infectología  
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

[Signature]  
SUBDIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA  
U.N.A.M.

[Signature]

Dr. José Sifuentes Osornio  
Jefe del Laboratorio de Microbiología Clínica  
Instituto nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Zubirán

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo representa el gran esfuerzo de todo el equipo del departamento de Infectología. Los residentes, logramos formar un equipo fuerte, amigable y trabajador. En particular agradezco a Jennifer, Paco, Claudia, y Toño por sus conocimientos y su entrañable amistad.

A Melissa y Ana Lilia por los estudios de susceptibilidad. A Narciso y Araceli por la realización de estudios moleculares. A Víctor y Esau por la realización de los campos pulsados.

Al Dr. Guillermo Ruiz-Palacios, al Dr. José Sifuentes, al Dr. Alfredo Ponce de León, a la Dra. Angelina Villasís, y al Dr. Juan Sierra Madero por su apoyo, sus enseñanzas, su paciencia y dedicación.

A Arturo, Javier y Mosqueda por su apoyo y su amistad, estaré en deuda con ellos por siempre.

A Bárbara, mi esposa, mi amor, mi cómplice y todo.

A mis padres por impulsarme siempre a lograr más y mejor.

## INDICE

<b>Introducción</b> .....	4
<b>Antecedentes</b> .....	5
Epidemiología de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	5
Tipificación molecular de <i>S. aureus</i> .....	7
<b>Justificación</b> .....	8
<b>Hipótesis</b> .....	9
<b>Objetivos</b> .....	9
<b>Pacientes y método</b> .....	9
Diseño .....	9
Detección de casos de neumonía y bacteriemia por <i>Staphylococcus aureus</i> .....	9
Identificación del organismo y determinación de la sensibilidad a oxacilina .....	10
Electroforesis en campo pulsado .....	11
Análisis estadístico .....	11
<b>Resultados</b> .....	12
Descripción de los casos de infección por <i>S. aureus</i> durante el 1er semestre 2005 .....	12
Prevalencia y Epidemiología Molecular de MRSA de enero 2004 a junio 2005 .....	13
<b>Discusión</b> .....	15
<b>Conclusiones</b> .....	18
<b>Bibliografía</b> .....	19
<b>Anexo 1. Tablas y gráficas</b> .....	22
<b>Anexo 2. Protocolo para extracción de DNA genómico de <i>S. aureus</i> para la electroforesis en campo pulsado</b> .....	29
<b>Anexo 3.</b> .....	30

## INTRODUCCIÓN

Un brote de una infección nosocomial es una situación apremiante para un hospital. El impacto en la morbi-mortalidad de los pacientes hospitalizados se asocia con prolongación de la estancia hospitalaria, procedimientos invasivos adicionales, incremento en los costos, e incluso la muerte.<sup>1</sup> La neumonía nosocomial es la segunda causa de infección y la primera causa de muerte en el medio hospitalario. La incidencia de dicha infección varía de 7.8 a 80%. Esta depende del tiempo de estancia hospitalaria, del método diagnóstico, de la estancia en una unidad de terapia intensiva y del tipo de población estudiada.<sup>2</sup>

La alta capacidad de adaptación de *Staphylococcus aureus*, agente causal de infecciones a múltiples órganos, hizo que rápidamente aparecieran cepas resistentes a penicilina y posteriormente a las penicilinas semi-sintéticas como meticilina.<sup>3</sup> En una serie reciente de Taiwán se encontró *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA por sus siglas en inglés) como causante de bacteriemia nosocomial hasta en 70% de los casos.<sup>4</sup> Previamente se consideraba que la adquisición de una cepa resistente a meticilina era exclusiva del medio hospitalario sin embargo se ha observado un aumento en la incidencia de cepas resistentes a meticilina de adquisición comunitaria, además de la aparición de cepas resistentes a vancomicina.<sup>5,6</sup> Las nuevas técnicas de tipificación molecular han permitido documentar la aparición de brotes nosocomiales de *S. aureus*, brindando información útil para el control y prevención de infecciones.<sup>7-9</sup> En el presente trabajo describimos un brote de *S. aureus* resistente a meticilina que ocurrió durante el primer semestre del 2005 en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

## ANTECEDENTES

### *Epidemiología de Staphylococcus aureus resistente a meticilina*

En las últimas dos décadas las infecciones por *S. aureus* adquiridas tanto en la comunidad como en el hospital se han incrementado al mismo tiempo que ha aumentado la utilización de dispositivos intravasculares.<sup>10</sup> Las neumonías nosocomiales por *S. aureus* han alcanzando 15 a 35% de los casos. De hecho, *S. aureus* es ahora el microorganismo gram positivo aislado con mayor frecuencia en neumonías asociadas a ventilador, y es el segundo agente etiológico después de *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>2</sup> De acuerdo al CDC (*Center for Disease Control and Prevention*), *S. aureus* es el agente aislado con mayor frecuencia en infecciones de herida quirúrgica y el segundo más frecuente en bacteriemias primarias nosocomiales, después de estafilococos coagulasa negativos.<sup>8</sup> En personas que utilizan drogas intravenosas es la primera causa de infección bacteriana, presentándose generalmente como abscesos subcutáneos.<sup>7</sup>

Otra tendencia preocupante es el aumento en la incidencia de *S. aureus* resistente a meticilina, que en un inicio se encontró en infecciones nosocomiales, pero que ahora se encuentra cada vez con mayor frecuencia en la comunidad. La meticilina se introdujo en 1959 y desde 1961 ya se reportaban las primeras cepas de *S. aureus* resistente a meticilina. De acuerdo al CDC el porcentaje de infecciones por MRSA en unidades de terapia intensiva se incrementó de forma constante entre 1987 y 1997. En dicho reporte muestran que la proporción de cepas sensibles a vancomicina pasó de 22.8% en 1987 a 56.2% en 1997. Las cepas de MRSA colonizan fácilmente a los pacientes durante su estancia hospitalaria y permanecen por mucho tiempo sin causar infección, por lo que la enfermedad puede ocurrir mucho tiempo después de la hospitalización. Además, dicha colonización pasa fácilmente desapercibida. Todo esto dificulta establecer la incidencia y prevalencia de la infección por MRSA en la comunidad. Este aumento en la

incidencia de MRSA está relacionado no solamente a la aparición de nuevas cepas de *S. aureus* sino a cambios en la población de pacientes (envejecimiento de la población, mayor número de pacientes inmunocomprometidos, utilización de más procedimientos invasivos y por tiempos más prolongados), además del empleo indiscriminado de antibióticos.<sup>11, 12</sup>

El gen *mecA* del *Staphylococcus aureus* codifica una proteína fijadora de penicilina de 78kDa (PBP-2A) que tiene muy pobre afinidad a betalactámicos. Dicho gen no está presente en las cepas sensibles a meticilina y se cree que se originó en otra especie de estafilococo. *mecA* se transporta en un elemento móvil, el Casete Cromosómico de estafilococo (SCC*mec*), del cual se han descrito cuatro formas de acuerdo a su tamaño y composición genética. Estudios de tipificación molecular han demostrado que son raras tanto la aparición de mutaciones *de novo* como la transmisión de SCC*mec* de una cepa resistente a una cepa sensible. Por otro lado, la aparición de MRSA se ha detenido exitosamente con medidas estrictas de control epidemiológico, lo cual indica que la adquisición de MRSA se debe principalmente a la transmisión de persona a persona. De hecho, se han descrito algunas clonas causantes de epidemias en diferentes países.<sup>3</sup> Los factores de riesgo para adquirir MRSA son: hospitalizaciones previas, catéteres intravasculares, úlceras de decúbito, haber sido expuesto a antibióticos recientemente, así como estar hospitalizado en una unidad de terapia intensiva. Actualmente ya se han descrito cepas con sensibilidad intermedia a glicopéptidos, situación por demás preocupante.<sup>13</sup>

### **Tipificación molecular de *Staphylococcus aureus***

La tipificación molecular juega hoy en día un papel esencial para el estudio de infecciones nosocomiales por *S.aureus* y puede brindar información crucial al momento de estudiar un brote. Para el análisis de las diferentes cepas de MRSA se han utilizado diferentes técnicas moleculares,<sup>7</sup> entre las cuales podemos citar:

- Electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) que compara fragmentos de DNA de 50 a 800 KB, y ha mostrado ser un método preciso y confiable aunque con limitaciones pues es costoso y laborioso, sobre todo para procesar un gran número de muestras;
- Tipificación de secuencias multilocus o MLST (Multilocus Sequence Typing) que permite identificar variaciones genéticas más antiguas, en fragmentos de 7 genes diferentes (*arcC*, *aroE*, *glpF*, *gmk*, *pta*, *tpi*, *ygiL*);
- Tipificación de *spaA* que se basa en la secuenciación de la región polimórfica de la proteína A, un superantígeno de *S. aureus*.

De esta forma, la mayoría de las cepas de MRSA epidémicas se han podido clasificar en 5 grandes “familias” o clonas llamadas de acuerdo al lugar en donde fueron encontradas originalmente o de acuerdo a una peculiaridad epidemiológica: Ibérica, Brasileña, Húngara, New York/Japan, y Pediátrica (reportada en Portugal en 1992). Debido a su alta resolución, la electroforesis en gel de campo pulsado ha sido considerada el estándar de oro en la investigación de un brote.<sup>7</sup>

## JUSTIFICACIÓN

Al igual que en el resto del mundo, la prevalencia de la resistencia a meticilina en México se ha elevado. En un estudio realizado en el Instituto<sup>14</sup> se analizó la tendencia de las bacteriemias y los factores de riesgo de muerte de 1981 a 1992, encontrando que 8% de los aislados fueron *S. aureus* con una prevalencia de resistencia a meticilina menor a 10% (Anexo 1. Tabla 1). Posteriormente, al analizar las bacteriemias de 1995 al 2000<sup>15</sup>, se encontró una resistencia a meticilina de 26%. Para principios del 2004 la tendencia de la resistencia a oxacilina aumentó a 45% (datos no publicados). Finalmente en un estudio reciente de la Red Nacional de Resistencia Bacteriana en México, en el que participaron 11 centros en toda la república<sup>16</sup>, se analizaron 641 aislados de *S. aureus* de junio a diciembre 2004, encontrando 41.3% de resistencia a meticilina en los aislados nosocomiales y 32.4% en los aislados de la comunidad.

En el Instituto, la tasa de infecciones nosocomiales aumentó de forma constante desde junio 2004 hasta alcanzar una tasa de 23.04 por 100 egresos en junio 2005; la tasa de bacteriemias por 100 egresos llegó a 2.8 y la tasa de neumonías llegó a 6.8 por 100 egresos. De acuerdo al reporte mensual de la subdirección de Epidemiología Hospitalaria del Instituto, la tasa de infecciones nosocomiales de enero 2004 a junio 2005 se situó fuera del canal endémico en 10 ocasiones. De éstas, 6 correspondieron al primer semestre de este año (Anexo 1. Fig 1 y 2). En ese periodo se observó también en el Laboratorio de Microbiología del departamento de Infectología, un aumento en los aislamientos de *S. aureus* resistentes a meticilina. Ante la posibilidad de que se tratara de un brote, decidimos realizar el presente estudio observacional tomando en cuenta los casos de neumonía y de bacteriemia primaria por ser las infecciones nosocomiales con mayor mortalidad.

## **HIPOTESIS**

Los pacientes fueron infectados por una sola clona de MRSA durante el brote ocurrido en el INCMNSZ durante el primer semestre de 2005.

## **OBJETIVO PRINCIPAL**

Describir y analizar los casos de infección nosocomial por *S. aureus* –resistente y sensible a meticilina- en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán de enero a junio del 2005.

## **OBJETIVOS SECUNDARIOS**

1. Describir las características clínicas y epidemiológicas más importantes de los casos de infección por *S. aureus* ocurridos durante el periodo de estudio.
2. Confirmar el fenotipo de resistencia a meticilina con el método molecular de detección del gen *mecA* por amplificación por PCR.
3. Tipificar las cepas de *S. aureus* –sensible y resistente a meticilina- por electroforesis en gel de campo pulsado.
4. Analizar el comportamiento molecular de *S. aureus* en el Instituto entre enero 2004 y junio 2005

## **PACIENTES Y MÉTODO**

1. **Diseño:** Se trata de un estudio observacional, retrospectivo, analítico.
2. **Detección de casos de neumonía y bacteriemia por *S. aureus***

Para la detección de los casos de bacteriemias y neumonías por *S. aureus* se realizó una consulta en la base de datos del laboratorio de microbiología usando como criterio de

búsqueda cualquier aislamiento de *S. aureus* de enero a junio 2005 en un inicio, y posteriormente de enero a diciembre 2004, en las siguientes muestras: expectoración, lavado bronquioloalveolar, expectoración por trampa de Müller y hemocultivo. Con el fin de incluir solo un aislado clínico por cada caso, excluimos las muestras tomadas del mismo paciente en un periodo menor de 15 días. Posteriormente se revisaron los expedientes de los casos del primer semestre 2005, obteniendo los siguientes datos:

- Datos demográficos: n° de registro, nombre, edad, género
- Enfermedades concomitantes
- Hospitalización: fecha de ingreso, fecha de egreso, diagnóstico, cama(s) en la(s) que estuvo y el periodo en el que estuvo en ella(s), y desenlace (muerte o mejoría)
- Procedimientos realizados durante su hospitalización: catéteres, cirugías, sonda Foley, sonda nasointestinal, intubación endotraqueal, otros
- Antibióticos empleados 7 días previos a su ingreso
- Antibióticos empleados durante su hospitalización
- Cultivos y aislamientos durante su hospitalización

Los datos se capturaron utilizando formatos de captura (Anexo 3). Posteriormente fueron integrados en Excel v. 2003 y analizados utilizando SPSS v.11.

### **3. Identificación del organismo y determinación de la sensibilidad a oxacilina**

La identificación del microorganismo fue hecha por métodos convencionales con el sistema VITEK-1. En cada aislado se determinó la concentración mínima inhibitoria de oxacilina (equivalente a metilicina) y 10 antibióticos alternos con el sistema VITEK-1 (bioMérieux, Lyon, Francia) de acuerdo con las recomendaciones de CLSI,<sup>17</sup> y en cada aislado se determinó la concentración mínima inhibitoria de oxacilina (equivalente a

meticilina) por microdilución en caldo<sup>18</sup>. Se hizo también la prueba de susceptibilidad en placa de agar Müller Hinton (suplementado con NaCl 2% y oxacilina 6µg/mL) se inoculó un volumen de 10 µL de una suspensión con turbidez semejante al estándar 0.5 de Mc Farland y se incubó a  $\leq 30^{\circ}\text{C}$  por 24 horas<sup>19</sup>.

La resistencia a oxacilina fue corroborada mediante la detección del gen *mec-A* por técnica de reacción de la polimerasa en cadena (PCR).<sup>20</sup>

#### 4. Electroforesis en campo pulsado (PFGE por sus siglas en inglés)

Para este análisis se utilizaron todas las cepas aisladas en el primer semestre 2005. La extracción del DNA se realizó de acuerdo al protocolo establecido (Anexo 2). Se utilizó la enzima de restricción *SmaI* (Invitrogen<sub>sm</sub>) la cuál es extraída de *Serratia marcescens* y tiene como blanco la secuencia:



Posteriormente el gel de electroforesis se corrió siguiendo el programa:

SWi = 5.5, SWf = 40, 6V a 19h. (Bio-Rad, Hercules CA)<sup>34</sup>

#### 5. Análisis estadístico

Los datos se muestran en tablas e histogramas. Se calcularon las tasas de bacteriemia, e infección respiratoria por *S. aureus*. Se utilizó estadística descriptiva con proporciones. Se calculó el riesgo de infección por MRSA por semestres. Se utilizó como estadístico de prueba a  $X^2$  o prueba exacta de Fisher según el caso; se tomó como significativa una  $p < 0.05$  con dos colas.

## RESULTADOS

### Descripción de los casos de infección por *S. aureus* durante el 1er semestre 2005

De enero a junio 2005 encontramos 45 casos de infección por *S. aureus* en 39 pacientes, que se distribuyeron de la siguiente manera: 26 bacteriemias y 19 neumonías. De los 45 aislados, 25 (55%) fueron resistentes a meticilina. Calculamos una tasa de bacteriemia y/o neumonía por *S. aureus* de 1.40 casos por 100 egresos. En UTI esta tasa fue de 6.37 casos por 100 egresos.

*Mortalidad por infección por MRSA durante el 1er semestre 2005:* La tasa de mortalidad por infección por *S. aureus* en todo el hospital fue de 25 por 100 casos. Sin embargo, cuando se analizó esta tasa de acuerdo al área de hospitalización se encontró que la mortalidad en la UTI fue menor que la del resto del hospital (15.38 muertes por 100 casos), en cambio en el servicio de urgencias fue 30.7 muertes por 100 casos y en los pisos generales, 28.5 muertes por 100 casos. (Tabla 2. Anexo 1). La tasa de mortalidad por bacteriemia fue 23.07 por 100 casos y por neumonía fue de 22.2 por 100 casos.

*Epidemiología molecular de los casos de infección por *S. aureus* durante el 1er semestre 2005:* Se compararon los diferentes patrones de electroforesis de los aislados del 2005 y encontramos 5 grupos muy semejantes que podían agruparse en lo que se denominó genotipo 1 (Fig 4b). Esta cepa predominante ocasionó 37.7% de los casos del 2005 (n=19), todos ellos resistentes a meticilina. En la figura 4a (Anexo 1) se muestra una foto representativa de los patrones de electroforesis.

*Localización y características de los casos de MRSA genotipo 1 en las camas del hospital durante 1<sup>er</sup> semestre 2005:* Con el fin de determinar el patrón de transmisión del genotipo 1 de *S. aureus* y localizar una posible fuente de infección del brote del primer semestre 2005 diseñamos una gráfica (Fig 6. Anexo 1) en donde se

muestran los casos de acuerdo a la ubicación y al periodo de su estancia hospitalaria. Los 19 eventos ocurrieron en 16 pacientes (el paciente 2 tuvo 2 eventos y el paciente 8 presentó 3). En dicha gráfica se puede notar que los casos de infección por este genotipo se repartieron en todo el hospital pero sobretodo en el segundo piso. Cinco pacientes fallecieron, lo cuál representa 31.25% de los casos de infección por MRSA genotipo 1, pero este grupo correspondió a 50% de los casos de muerte por *S. aureus* en general. La mayoría de los 19 casos (57.8%) presentó neumonía. Todos habían sido manejados con catéter venoso central, aunque solo 4 (25%) de ellos habían requerido una línea arterial, y 6 de ellos estuvieron con ventilación mecánica.

### **Prevalencia y Epidemiología Molecular de MRSA de enero 2004 a junio 2005**

Para el siguiente análisis, se utilizaron los datos obtenidos de la base de datos del Laboratorio de Microbiología Clínica del Instituto, así como datos recientes de la red de resistencia bacteriana,<sup>36</sup> en donde se describieron las cepas de *S. aureus* aisladas durante el 2004.

*Prevalencia de MRSA de enero 2004 a junio 2005:* Se observó una alta prevalencia de resistencia a meticilina la cual se mantuvo constante desde enero 2004 hasta junio 2005 (tabla 3. Anexo 1). En la figura 3a (Anexo 1) podemos observar la alta prevalencia a meticilina a lo largo del periodo de estudio. Como se muestra en la Fig 3b (Anexo 1) encontramos que en la UTI hubo un predominio de cepas resistentes a oxacilina durante 2004 y 100% de resistencia a meticilina en el primer semestre de 2005.

*Epidemiología molecular de S. aureus de enero 2004 a junio 2005:* En el periodo de estudio se encontraron 166 cepas de *S. aureus* (Tabla 4 Anexo 1). Al comparar los patrones de campos pulsados de todos los aislados, 96 de ellos, se

agruparon en 21 genotipos. Los demás aislados fueron cepas únicas. En el 2004 se observó que predominaba una cepa y de acuerdo a la figura 4b (Anexo1) que muestra un diagrama de las bandas de electroforesis de las cepas predominantes del 2004 (Fig 4b) y del 2005 (Fig 4c), se puede observar que difieren únicamente por 1 banda con lo que se concluye que ambas corresponden al genotipo 1. En total, 36 (21.7%) de todos los aislados de enero 2004 a junio 2005 pertenecían al genotipo 1. En la figura 5 (Anexo 1) se muestra el comportamiento molecular de los diferentes genotipos de *S. aureus* de enero 2004 a junio 2005. Se puede observar la presencia constante del genotipo 1, marcado en rojo, con periodos de remisión y exacerbación recurrentes. El resto de los genotipos fue poco prevalente durante el 2004. Durante el primer semestre 2005 no se presentaron grupos además del genotipo 1. En el periodo mostrado, se presentaron 3 brotes de genotipo 1: los dos primeros durante el 2004 y el último en el primer semestre 2005, el cuál contribuyó a los eventos observados durante el primer semestre 2005 y motivó el presente trabajo.

## DISCUSIÓN

Se encontró una tasa de resistencia muy elevada, 100% en áreas de alto riesgo como lo es la unidad de terapia intensiva. El número de infecciones por MRSA incrementó de manera notable con la aparición de varios genotipos pero con predominio de uno de ellos, el genotipo 1, lo que traduce la emergencia de una epidemia cuasi clonal; pero dicha cepa estuvo presente a lo largo del 2004 presentando remisiones y exacerbaciones. Esto sugiere que este genotipo es endémico y que el brote que presenciamos en el primer semestre 2005 no fue sino una de estas exacerbaciones.

Al comparar nuestros resultados con estudios previos realizados en el mismo Instituto, encontramos una prevalencia alta de resistencia a meticilina, más del doble en comparación con la última publicación del 2003.<sup>15</sup>

Las diferentes cepas de *S. aureus* que se aislaron de enero a junio del 2005, se distribuyeron en todo el hospital, aunque al hacer el análisis de campo pulsado se encontró que la cepa predominante (genotipo 1) se presentó principalmente en el segundo piso. Nuestro estudio no permite precisar la causa de esto aunque podemos anticipar que está relacionado a una deficiencia grave en la aplicación de las precauciones universales.

Datos recientes del laboratorio de microbiología muestran un alza en la tasa de resistencia a meticilina de 45% durante el 2004. Por ello, el hecho de encontrar dos poblaciones de MRSA (una clona genotipo 1 y un grupo de clonas con representación menor) nos sugiere un problema endémico desde el cual emerge un brote.<sup>35</sup>

En la UTI se observó una mayor proporción de cepas resistentes a meticilina. Esto no se vio reflejado en un aumento en la mortalidad, pero es importante considerarlo dado que puede contribuir a que se propaguen estas cepas en todo el hospital una vez que los pacientes son egresados a un área de hospitalización general.

De hecho, el paciente I ya había estado hospitalizado el año pasado en la UTI con una infección por MRSA, por lo que posiblemente permaneció colonizado. Se sabe que los pacientes hospitalizados se colonizan por *S. aureus* y el riesgo de colonización aumenta con el tiempo de estancia hospitalaria. Estos pacientes tienen un riesgo mucho mayor de desarrollar infecciones por *S. aureus*.<sup>21-27</sup>

La habilidad para discriminar entre diferentes cepas de una especie bacteriana permite estudiar la evolución de la especie, la virulencia bacteriana y la transmisión de la cepa. Es por ello que la tipificación molecular se ha transformado en una herramienta crucial para estudiar un brote y en este trabajo, el estudio de campo pulsado nos permitió detectar una clona predominante y de esa forma identificar el riesgo de transmisión.<sup>32, 33</sup>

Varios grupos de investigadores han demostrado colonización por MRSA en las manos de los trabajadores de la salud, pero también en las batas y en diversos equipos portátiles como estetoscopios, baumanómetros, etc. Así mismo, se ha encontrado colonización en los cuartos de hospital (pisos, muebles, etc.). Además se ha demostrado que un lavado de manos insuficiente favorece que los trabajadores colonizados transmitan estos microorganismos de un enfermo a otro. Es posible que los trabajadores de salud de nuestro Instituto hayan estado colonizados por MRSA, situación que amerita investigación a mayor profundidad.

Las últimas guías para el control de las infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina<sup>22, 23</sup> establecen como objetivos primarios del control de infecciones, la prevención de la adquisición de microorganismos por los pacientes y su transmisión por el personal de salud. Las medidas para evitar la transmisión de MRSA han demostrado ser costo-efectivas, aunque son difíciles de mantener a lo largo del tiempo y los resultados difíciles de evaluar. Para ello se han

diseñado diversos modelos de simulación.<sup>29, 30</sup> Por ejemplo Raboud *et al*, demostraron mediante un modelo simulado de transmisión de MRSA que mejorando, por un lado, las medidas universales de protección, y por otro, tomando medidas de escrutinio (cultivando a los pacientes al momento de su ingreso), la adquisición nosocomial de cepas de MRSA disminuyó hasta en 35%.<sup>29</sup> Otra estrategia para la erradicación de MRSA nasal en un hospital es el empleo de mupirocina. Sin embargo su empleo indiscriminado tiene como consecuencia la aparición de cepas resistentes.<sup>31</sup> Un estudio reciente por Gordin *et al*, demostró una disminución en la incidencia de infecciones por MRSA y enterococo resistente a vancomicina en una unidad de terapia intensiva después de un año del empleo regular de una solución con alcohol para la descontaminación de las manos del personal de salud.<sup>28</sup> Con esta información se creó un grupo multidisciplinario en el Instituto que después de estudiar el brote decidió reforzar la aplicación de las medidas de control epidemiológico, cultivar al personal de salud y a los pacientes hospitalizados con el fin de investigar la presencia de portadores. Esto es motivo de otro estudio que se encuentra en evolución.

Aunque es muy pronto para evaluar el impacto de las medidas de control epidemiológico tomadas, en agosto el número de infecciones nosocomiales disminuyó considerablemente pero continuó presentándose una alta proporción de bacteriemias con una tasa de bacteriemia por *S. aureus* de 1.88 por 100 egresos. Entre agosto y septiembre 2005 se presentaron 21 bacteriemias por *S. aureus* con una tasa de resistencia a meticilina del 38%, 17 puntos porcentuales menos que durante el brote descrito.

## CONCLUSIONES

En el presente trabajo describimos un brote de MRSA que ocurrió durante el primer semestre del 2005 en un hospital de tercer nivel en México debido a una cepa endémica en el hospital por lo menos desde el 2004.

La resistencia a antimicrobianos es un problema creciente que impacta de forma importante en la morbi-mortalidad de los pacientes, tanto hospitalizados como en la comunidad. Por otro lado, la incidencia de cepas de *S. aureus* resistente a meticilina continúa incrementándose en el mundo, tanto en los hospitales como en la comunidad, y nuestros datos comprueban la gravedad de esta situación en un hospital de tercer nivel del sistema de salud mexicano.

El análisis de campos pulsados nos permitió detectar una clona predominante para luego tomar las acciones epidemiológicas pertinentes. Sin embargo, para controlar el problema, será necesario mantener dichas acciones vigentes a largo plazo.

La mejor forma de identificar y entender la prevalencia, distribución y dinámica de transmisión de una infección es la integración de la epidemiología molecular y la microbiología con el desarrollo de estrategias de prevención social adecuadas.

## BIBLIOGRAFIA

1. Gastmeier, P., Hansen, S., Nitzschke-Tiemann, F., Groneberg, K., Rüden, H. **How outbreaks can contribute to prevention of nosocomial infections: analysis of 1, 022 outbreaks.** *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26: 357-361.
2. De Ryke, A., Lodise, T., Rybak, M., Peggy, S. **Epidemiology, treatment, and outcomes of nosocomial bacteremic *Staphylococcus aureus* pneumonia.** *Chest*. 2005; 128: 1414-1422.
3. Olivera, D., Tomasz, A., De Lencastre, H. **Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.** *Lancet Infect Dis*. 2002; 2:180-189.
4. Liao C, Chen S, Chang S, Hsueh P, Hung C, Chen Y. **Characteristics of community-acquired and health care-associated *Staphylococcus aureus* bacteremia in patients treated at the emergency department of a teaching hospital.** *Diagn Microbiol Infect Dis* Oct 2005 article in press.
5. Zetola N, Francis JS, Nuermberger EL, Bishai WR. **Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging threat.** *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 275-86
6. Smith, T., Person, M., Wilcox, K., Cruz, C., Lancaster, M., Robinson-Dunn, B., Tenover, F., Zervos, M., Band, J., White, E., Jarvis, W. **Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*.** *N Engl J Med*. 1999; 340: 493-501.
7. Lowy FD, Miller M. **New methods to investigate infectious disease transmission and pathogenesis—*Staphylococcus aureus* disease in drug users.** *Lancet Infect Dis* 2002 2: 605-12
8. Hsu, L., Koh, T., Singh, K., Kang, M., Kurup, A., Tan, B. **Dissemination of multisusceptible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Singapore.** *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43: 2923-2925.
9. Krzyszton-Russjan, J., Empel, J., Lęsk, T., Gniadkowski, M., Hryniewicz, W. **Clonal structure of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) population in Poland: Revision and Update.** *Microb. Drug Resist.* 2005; 11: 127-136.
10. Lowy, F. ***Staphylococcus aureus* infection.** *N Engl J Med*. 1998; 339: 520-532.
11. Enright, M., Robinson, A., Randle, G., Feil, E., Grundmann, H., Spratt, B. **The evolution history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).** *Proc Nat Acad Sci* 2002; 99:7687-7692.
12. Editorial. **Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a modern epidemic.** *E-B Healthcare Pub Health* 2005; 9: 1-3
13. Bradbury J. **Mechanisms of *Staphylococcus aureus* dissected further.** *The Lancet Infect Dis* 2003; 3: 5
14. Sifuentes-Osornio J, Guerrero-Almeida MC, Ponce de León-Garduño LA, Guerrero-Almeida ML. **Tendencia de las bacteremias y factores de riesgo de muerte en un hospital de tercer nivel de la Ciudad de México. 1981 a 1992.** *Gac Méd Méx* 2001; 137: 191-202

15. Kato-Maeda, M., Bautista-Alavez, A., Rolón-Montes-de Oca, A., Ponce-de-León, A., Bobadilla-del Valle, M., Ruiz-Palacios, G., Sifuentes-Osornio, J. **Tendencia en el incremento de la resistencia antimicrobiana en organismos causantes de bacteremia en un hospital de tercer nivel: 1995-2000.** *Rev Inv Clin* 2003; 55: 600-605
16. Rolón AL, Reyes-Mar J, Sifuentes-Osornio J, *et al.* Red Nacional de Resistencia Bacteriana en México. **Características Epidemiológicas de *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina (SARO) en México.** 2004. poster C34. XXX congreso de la Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica, AC. Mérida, Yucatán, México 6-9 Julio 2005.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement.** CLSI document M100-S15. CSLI, Wayne PA 2005.
18. Murray PR. **Manual of Clinical Microbiology.** 8ª ed. ASM press 2003
19. Urdez-Hernández E., Sifuentes-Osornio J., Calva J.J. and Villalobos-Zapata Y. **Epidemiological and biological characteristics of methicillin-resistant staphylococci in a Mexican hospital.** *Arch Med Res* 1999;30:325-331
20. Murakami K, Minamide W, Wada K, Nakamura E, Teraoka H, Watanabe S. **Identification of Methicillin-Resistant Strains of Staphylococci by Polymerase Chain Reaction.** *J Clin Microb* 1991; 29: 2240-2244
21. Keene, A., Vavagiakis, P., Lee, M., Finnerty, K., Nicolls, D., Cepedes, C., Quagliarello, B., Chiasson, M., Chong, D., Lowy, F. **Staphylococcus aureus colonization and the risk of infection in critically ill patients.** *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26: 622-628.
22. Working Party Report. **Revised guidelines for the control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in hospitals.** *J Hosp Infect.* 1998; 39: 253-290.
23. Muto CA, Jernigan JA, Ostrowsky BE, Richet HM, Jarvis WR, Boyce JM, Farr BM. **SHEA Guideline for Preventing Nosocomial Transmission of Multidrug-Resistant Strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*.** *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003;24:362-386
24. Kuehnert, M., Hill, H., Kupronis, B., Tokars, J., Solomon, S., Jernigan, D. **Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* hospitalizations, United States.** *Emerging Infectious Diseases.* 2005; 11: 868-872.
25. Marshall C, Harrington G, Wolfe R, Fairley C, Wesselingh S, Spielman D. **Acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a large intensive care unit.** *Infect. Control Hosp Epidemiol* 2003; 24:322-26.
26. Wertheim, H., Vos, M., Ott, A., van Belkum, A., Voss, A., Kluytmans, J., van Kevlen, P., Vandenbroucke-Grauls, C., Meester, M., Verbrugh, H. **Risk and outcome of nosocomial bacteraemia in nasal carriers versus non-carriers.** *Lancet.* 2004; 364: 703-705.
27. Wertheim HF L, Vos MC, Ott A, van Belkum A, Voss A, Kluytmans JA J W, van Keulen PH J, Vandenbroucke-Grauls CMJE, Meester MHM, Verbrugh HA. **Risk and outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteraemia in nasal carriers versus non-carriers.** *Lancet* 2004; 364: 703-05
28. Gordin, F., Schultz, m., Huber, R., Gill, J. **Reduction in nosocomial transmission of drug-resistant bacteria after introduction of alcohol-based handrub.** *Inect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26: 650-653.
29. Rabouton, j., Saskin, R., Simon, A., Loeb, M., Green, K., Low, D., McGreen, A. **Modeling transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus***

- among patients admitted to a hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26: 607-615.
30. Forrester, M., Comm, B., Arts, B., Pettitt, A. **Use of stochastic epidemic modeling to quantify transmission rates of colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a intensive care unit.** *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26: 598-606.
  31. Vivoni, A., Santos, K., De Oliveira, M., Giambiagi-de Marjal, M., Ferreira, A., Riley, I., Moreira, B. **Mupirocin for controlling methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Lessons from a decade of use at a university hospital.** *Inect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26: 662-667.
  32. Jackson, B., Thomas, A., Carroll, K., Adler, F., Samore, M. **Use of strain typing data to estimate bacterial transmission rates in healthcare settings.** *Inect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26: 638-645.
  33. Mitani N, Koizumi A, Sano R, Masutani T, Murakawa K, Mikasa K, Okamoto Y, **Molecular Typing of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by PCR-RFLP and Its usefulness in an Epidemiological Study of an Outbreak.** *Jpn J Infect Dis* 2005; 58: 250-52.
  34. GenePath Group 1. Reagent Kit Instruction Manual
  35. Young LS, Perdreau-Remington F, Winston LG. **Clinical, Epidemiologic, and Molecular Evaluation of a Clonal Outbreak of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection.** *Clin Infect Dis* 2004; 38:1075–83
  36. Reyes-Mar J, Rolón A, Bobadilla M, Martinez RA, Ponce-de-León A, Tinoco JC, Sifuentes-Osornio J. **False susceptibility to clindamycin in *Staphylococcus aureus* and Molecular Epidemiology of MRSA in Mexico: a Multicenter Laboratory-Based Surveillance Study.** Poster n°444 IDSA 43<sup>rd</sup>, San Francisco, EUA. 2005

## Anexo 1. Tablas y figuras

Tabla 1. Frecuencia los microorganismos aislados en bacteriemias por período<sup>12</sup>

Microorganismo	81-84		85-88		89-92		Global	
	Total	%	Total	%	Total	%	Total	%
<i>Escherichia coli</i>	61	26	63	29	53	23	177	26
Estafilococo Coag. Neg.	55	23	37	17	24	10.5*	116	17
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	7.6	18	8.5	20	8.8	56	8
<i>Klebsiella</i> spp	15	6	19	9	19	8.3	53	7.8
<i>Enterobacter</i> spp	24	10	11	5	15	6.6	50	7.3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	4.2	9	4	16	7	35	5.1
<i>Salmonella</i> spp	21(9)*****	8.8	16(6)	7	8(4)	3.4	45	6.6
<i>Serratia</i> spp	10	5	9	4	3	1.3	22	3.2
<i>Enterococcus</i> spp	2	0.8	10	4.5	10	4.3*	22	3.2
Otras enterobacterias**	5	11	4	21				
Otros bacilos gramnegativos ***	5		3		15		23	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2		2		8		12	
Estreptococos b-hemolíticos	3		2		5		10	
Otros grampositivos ****	8		3		3		14	
<i>Candida</i> spp	-	-	5	2	15	6.5*	20	3
Otros*****	1		1		1			

\* $\chi^2$  de tendencia;  $p < 0.01$  para todas las comparaciones.

\*\* Incluye: *Citrobacter* spp, *Shigella* spp, *Morganella* spp, *Proteus* spp, *Providencias*;

\*\*\* *Aeromonas* spp., *Stenotrophomonas* spp, *Acinetobacter* spp.

\*\*\*\* *Micrococcus* spp. y *Streptococcus viridans*;

\*\*\*\*\* Números entre paréntesis son los casos de *S. typhi*;

\*\*\*\*\* *Clostridium*, *Bacteroides* y *Cryptococcus*.

Tabla 2. Casos de infección y muerte por *Staphylococcus aureus* de acuerdo a sala de hospitalización

Sala de hospitalización	Casos n(%) N = 39	Defunciones n (%) N = 10	Mortalidad*
Urgencias y hospitalización urgencias	13 (33.3)	4 (40)	30.7
1 <sup>er</sup> piso	6 (15.4)	2 (20)	33.3
2 <sup>o</sup> piso	6 (15.4)	1 (10)	16.6
3 <sup>er</sup> piso	2 (5.1)	1 (10)	50
Hospitalización general (todos los pisos)	27 (69.2)	8 (80)	29.6
UTI + terapia monitorizada	12 (30.7)	2 (20)	16.6
Todas	39 (100)	10 (100)	25.6

\* mortalidad por 100 infecciones por *S. aureus*

Tabla 3. Casos de bacteriemia e infección respiratoria por MRSA en el INCMNSZ: enero 2004 a junio 2005

Evento de infección por <i>S. aureus</i>	2004						2005				
	Ene-Jun				Jul-Dic		Ene-Jun				
	N (%)	Tasa/1000 egresos	RR (IC95%) 1 <sup>o</sup> sem/ 2 <sup>o</sup> sem 2004	p	N (%)	Tasa/1000 egresos	RR	N (%)	Tasa/1000 egresos	RR (IC95%) 1 <sup>o</sup> sem 2005 /2 <sup>o</sup> sem 2004	p
<b>Bacteriemias</b>											
Total	28	12.2			17	7.3		26	12		
MRSA	11 (39.2)	4.8	2.8 (0.7, 8.4)	0.12	5 (29.4)	2.1	1	12 (46.1)	5.6	1.58 (0.8, 3.13)	0.14
<b>Infecciones respiratorias</b>											
Total	40	17.4			17	7.3		19	8.8		
MRSA	25 (62.5)	10.9	2.1 (1.03, 4.67)	0.02	12 (70.5)	5.1	1	13 (68.4)	6	2.35 (0.8, 7.54)	0.08
<b>Ambas infecciones</b>											
Total	68	29.6			34	14.6		45	20.9		
MRSA	36 (52.9)	15.7	2.15 (1.2, 4.1)	0.007	17 (50)	7.3	1	25 (55)	11.6	2.66 (0.9, 9.6)	0.06
Genotipo 1/ MRSA	9		0.771 (0.48, 1.24)	0.381	7		1	19	1.949 (0.993, 3.824)		0.53

Tabla 4. Genotipos de *Staphylococcus aureus* aislados de pacientes hospitalizados en el INCMNSZ de enero 2004 a junio 2005

Genotipo	cepas
1	36
2	7
5	2
6	2
7	2
8	2
9	2
10	2
11	2
13	3
17	6
18	4
19	2
20	5
21	6
23	2
24	2
26	2
28	2
111	6
2214	8
Cepas únicas	70
Total	166

Fig 1. Tasa de infecciones nosocomiales: 2004-2005

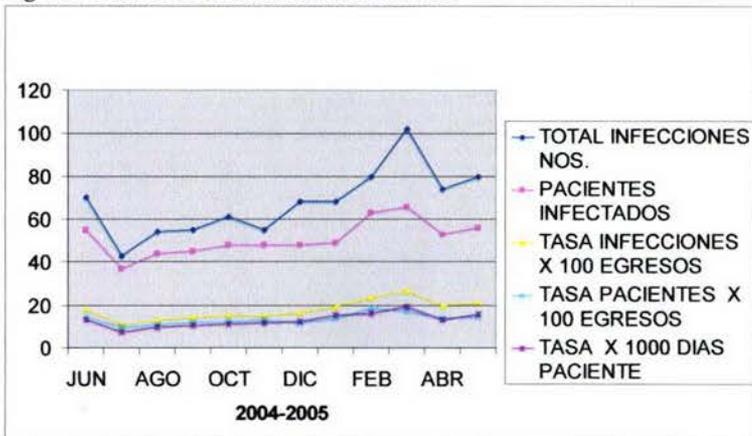
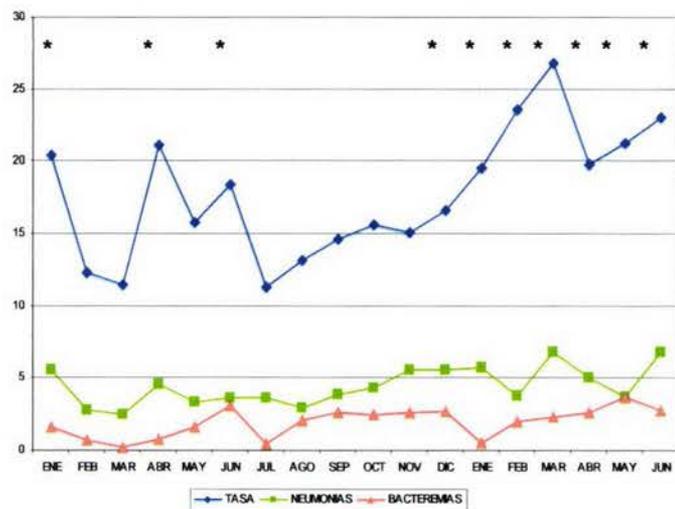


Fig 2. Tasa de infecciones nosocomiales, neumonías y bacteriemias: 2004-2005



\* Mes en que la tasa estuvo fuera del canal endémico

Fig 3a. Casos de infección (bacteriemia o neumonía) por *Staphylococcus aureus* en el INCMNSZ de acuerdo a sensibilidad a meticilina y genotipo 1: enero 2004 a junio 2005

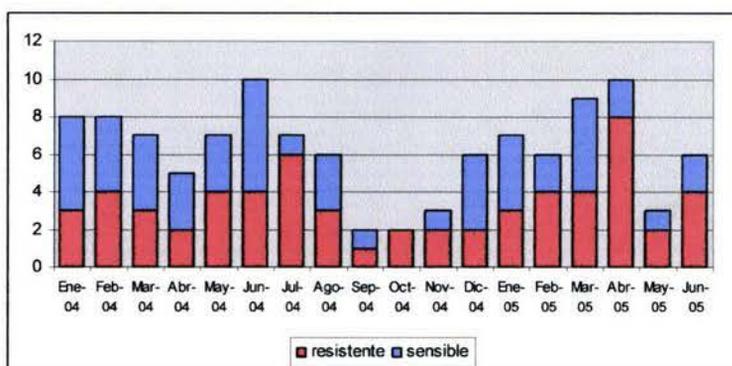


Fig 3b. Casos de infección (bacteriemia o neumonía) por *Staphylococcus aureus* en la UTI del INCMNSZ de acuerdo a sensibilidad a meticilina y genotipo 1: enero 2004 a junio 2005

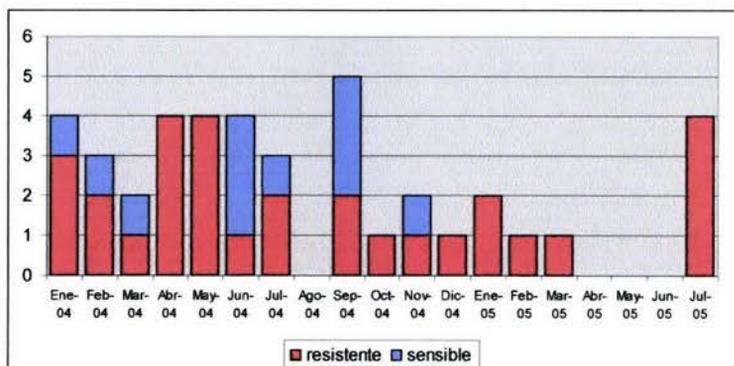




Fig 5. Infecciones por *Staphylococcus aureus* de acuerdo a genotipo: enero 2004- junio 2005

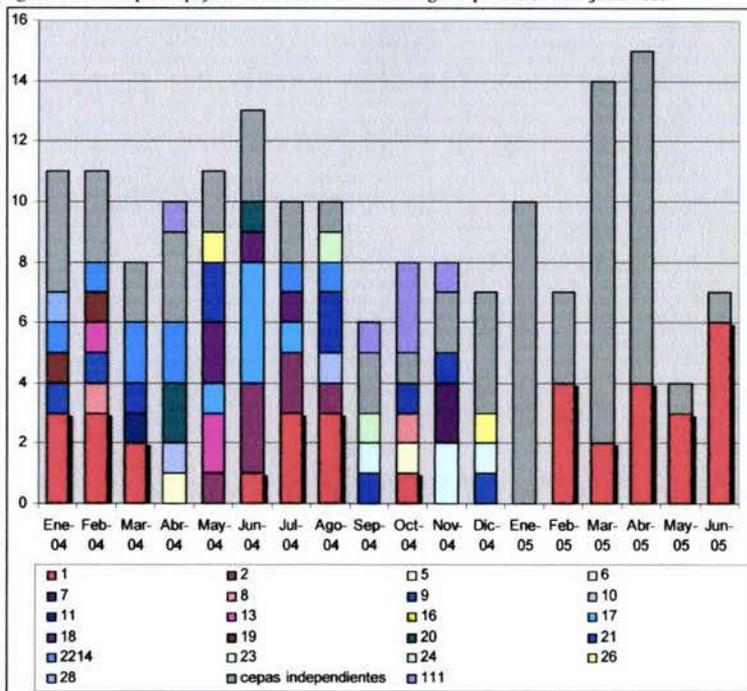
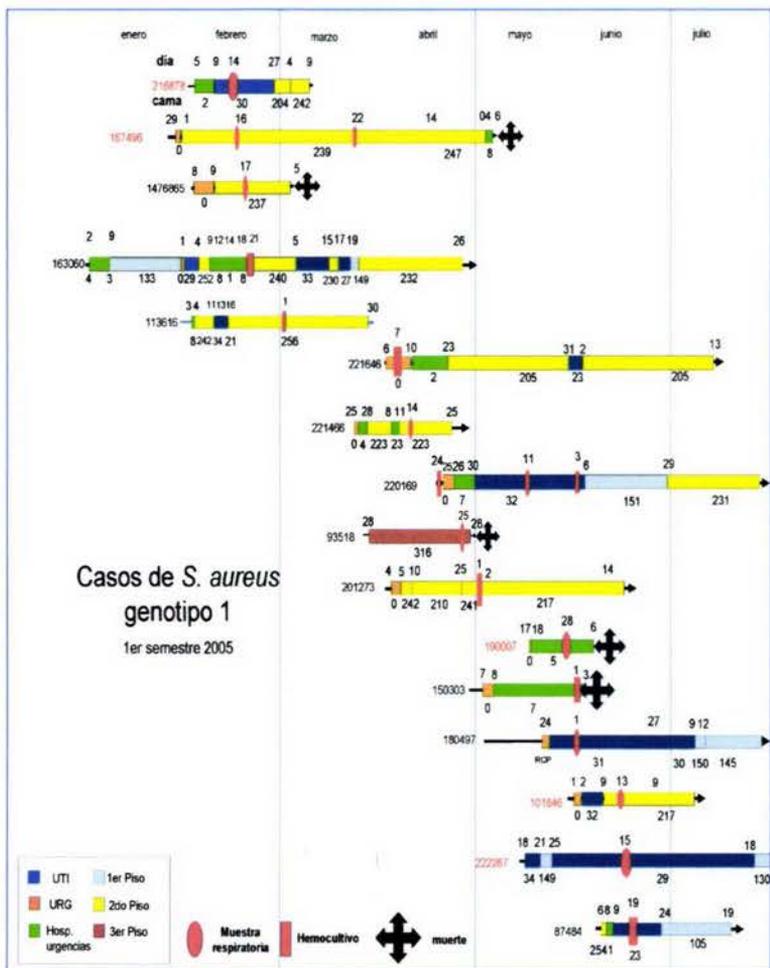


Fig 6. Casos de *Staphylococcus aureus* genotipo I de acuerdo a sala y periodo de hospitalización



Cada caso es representado por una flecha formada por diferentes rectángulos de colores. Cada color corresponde a un área del hospital. Por debajo de las flechas se encuentran marcadas las camas y por arriba, las fechas en las que estuvieron hospitalizados. Los casos están ordenados cronológicamente de arriba hacia abajo.

## Anexo 2. Protocolo para extracción de DNA genómico de *S. aureus* para la electroforesis en campo pulsado<sup>34</sup>

1. Hacer un cultivo de toda la noche en medio BHI o Todd-Hewitt a 37°C en agitación a 220 RPM
2. Tomar 100µL del cultivo en tubo Eppendorff de 1.5 mL y centrifugar a 1 min a 14000 RPM, solo metiendo en la centrifuga 2 tubos para comparar.
3. Revisar el paquete celular de los 2 tubos de Eppendorff
4. Eliminar con la pipeta automática el sobrenadante. Resuspender en 400µL de solución PIV (NaCl 1M, Tris HCl 10 mM pH=7.6) para eliminar el medio de cultivo.
5. Centrifugar 1 min a 14000 RPM.
6. Eliminar el sobrenadante con la pipeta automática
7. Resuspender en 150µL de PIV, haciéndolo cuidadosamente para no degradar el DNA
8. Incubar a 50°C para equilibrar la temperatura por no más de 15 min.
9. Agregar 7µL de lisozima (20 mg/mL), inmediatamente 7µL de lisostafin (10mg/dL) y mezclar cuidadosamente 150µL de agarosa al 1.2% previamente equilibrada a 50°C.
10. De la mezcla ya homogeneizada tomar 100µL y colocarlos en los moldes con precaución para que se llenen completamente, haciéndolo por duplicado.
11. Dejar solidificar los bloques a temperatura ambiente y luego en refrigeración a 4°C durante 15 min.
12. Colocar los bloques ya solidificados en tubos de Eppendorff y agregarles a cada uno 500µL de buffer de lisis (Gris k.o. 6 Mm. P.D. 7.6, NaCl 1M, EDTA 100mM P.D.=8, desoxicolato a 0.2%, Lauril Sarcosil 0.5%, 5µL de Lisozima a 20 mg/mL y 5µL de Lisostafin 10 mg/mL).
13. Incubar a 37°C toda la noche.
14. Eliminar la solución de lisis, lavando 1 mL de buffer TE 1X, agitar invirtiendo los tubos.
15. Eliminar el buffer con una pipeta automática, después de eliminar el buffer añadir 500µL de buffer de proteinasa K (Sarcosil 1% y EDTA 0.5 M pH 9-9.5) y 20µL de proteinasa K (20 mg/mL).
16. Incubar a 50°C toda la noche
17. Hacer un lavado express con buffer TE 1X (500µL), agitarlos invirtiéndolos. Eliminar el buffer.
18. Hacer 3 lavados de 40 min cada uno con buffer TE 1X (500µL c/u). Con agitación.
19. Eliminar en cada lavado el buffer TE 1X
20. Hacer un lavado con buffer TE 0.1X agitándolos por 40 min (500µL).
21. Eliminar el buffer 0.1X
22. Equilibrar con 500µL de buffer de digestión para *Sma*I 1X por 40min.
23. Eliminar los 500µL de buffer, agregar 300µL de buffer con 2.5µL de la enzima *Sma*I.
24. Incubar a 25°C toda la noche.
25. Lavar con buffer TE 1X (500µL) una vez. Quitar el buffer y volver a agregar buffer TE 1X (700µL) para poder conservar los bloques. Preparar el gel de electroforesis al 1% con buffer TBE 0.5X
26. Teñir el gel con bromuro de etidio por 6 a 20 min
27. Correr el gel con el programa SWi = 5.5, SWf = 40, 6V a 19h.

### Anexo 3. Formato de captura de datos

#### FORMATO DE CAPTACION DE DATOS

Fecha de Captura \_\_\_\_\_

1. Nombre \_\_\_\_\_
2. Registro \_\_\_\_\_ Edad \_\_\_\_\_
3. Fecha de Ingreso \_\_\_\_\_  
Fecha de Egreso \_\_\_\_\_
4. Procedencia 0. Comunidad  
1. Hospitalización  
2. Otro Hospital
  
5. Diagnósticos
  1. \_\_\_\_\_
  2. \_\_\_\_\_
  3. \_\_\_\_\_
  4. \_\_\_\_\_
  5. \_\_\_\_\_
  
6. Factores de Riesgo
  1. Catéter venoso Central ( )  
Fecha colocación  
Fecha de retiro
  2. Línea arterial ( )  
Fecha colocación  
Fecha de retiro
  3. Catéter urinario ( )  
Fecha colocación  
Fecha de retiro
  4. Ventilación mecánica ( )  
Fecha colocación  
Fecha de retiro
  5. Sonda naso-enteral ( )  
Fecha colocación  
Fecha de retiro
  6. cirugía ( )  
Fecha colocación  
Fecha de retiro

7. Antibióticos 7 días previos al ingreso

_____
_____
_____
_____

( )	
Fecha inicio	Fecha termino
_____	_____
Fecha inicio	Fecha termino
_____	_____
Fecha inicio	Fecha termino
_____	_____
Fecha inicio	Fecha termino
_____	_____

8. Antibióticos Posteriores al ingreso

Antibiótico	Fecha inicio	Fecha termino
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

9. Muestras Clínicas

Aislamiento	Num. muestra	fecha toma	sensibilidad
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____