



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

Control de un brote de *Aeromonas*
asociado al agua hospitalaria en el
Hospital
Infantil de México Federico Gómez en
abril 2014

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN:

PEDIATRÍA

P R E S E N T A:

Dra. Alba Grisell Junco Pérez

TUTORA:

Dra. Daniela de la Rosa Zamboni



CIUDAD DE MÉXICO

FEBRERO 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



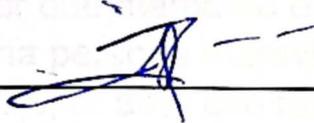
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

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.

DR. SARBELIO MORENO ESPINOSA
DIRECTOR DE ENSEÑANZA Y DESARROLLO ACADÉMICO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ



TUTORA:
DRA. DANIELA DE LA ROSA ZAMBONI
SUBDIRECCIÓN DE ATENCIÓN INTEGRAL AL PACIENTE
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

Agradecimientos:

Gracias a mi familia: mi mamá, mi papá, mi hermano, a mi abuelita, mis tías Irene y Ana Laura, a mis primos Sara, Xareni y Jesús, a mi tío Agustín y Santiago, todos siempre unidos, me han apoyado y han estado conmigo en todo momento. Abuelito, eres mi guía en este camino. Gracias a mis amigos: Dante, Pedro, Cristina (mi hermana de residencia), Fernanda, Paulina: gracias por apoyarme durante toda mi carrera, mi residencia y por todo lo que han hecho por mí en la cuestión personal. Gracias Daniel, por estar conmigo y apoyarme a pesar de la distancia.

Gracias a mis maestros médicos, gracias al Hospital Infantil de México y gracias a los pacientes que son la fuente diaria de nuestra enseñanza.

Gracias doctora de la Rosa por ser mi tutora y coordinadora en este proyecto. Gracias al doctor Antonio Orozco por su orientación.

Y gracias a ti Axel, por ser mi mayor orgullo y mi mayor motivación, porque de no ser por ti, yo no estaría cumpliendo mis metas. Porque para ti no es fácil ver que mamá no está todo el tiempo contigo y a pesar de eso, eres una persona maravillosa, responsable, amorosa, inteligente. Gracias hijo, te amo con todo mi corazón y este logro es por ti y para ti.

ÍNDICE

1. TÍTULO.....	5
2. ABSTRACT.....	5
3. INTRODUCCIÓN:	
4. CONTEXTO DEL BROTE.....	6
5. IDENTIFICACIÓN DEL BROTE.....	6
6. ANTECEDENTES (MARCO TEÓRICO).....	8
7. JUSTIFICACIÓN.....	11
8. OBJETIVOS.....	12
9. BÚSQUEDA DE DEFINICIÓN DE CASOS.....	13
10. METODOLOGÍA.....	15
11. RESULTADOS.....	19
12. INTERVENCIONES.....	22
13. SECUENCIA DE EVENTOS.....	23
14. CURVA ENDÉMICA Y EPIDÉMICA	24
15. DISCUSIÓN.....	26
16. FORTALEZAS Y DEBILIDADES (LIMITACIONES DEL ESTUDIO)....	28
17. CONCLUSIONES.....	29
18. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	30
19. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

TÍTULO

Control de un brote de *Aeromonas* asociado al agua hospitalaria en el Hospital Infantil de México Federico Gómez en abril de 2014.

ABSTRACT

En abril de 2014 un niño con padecimiento oncológico estando hospitalizado en el edificio de oncología, quien estaba por darse de alta, presentó flictenas en la piel, con evolución rápida a choque séptico y muerte en menos de 24 horas. Dado que era el primer caso con tales características que se presentaba en el hospital en los últimos 10 años, se consideró como brote, se realizaron cultivos ambientales de la habitación del niño, agua y grifos. Los cultivos de sangre, flictenas, agua y grifos fueron positivos para *Aeromonas hydrophila*.

Se cambió el grifo de la habitación del niño, y se cultivó agua del edificio de Hemato oncología (donde se encontraba hospitalizado el paciente) de distintos lados tanto de grifos como de cisternas, los cuales fueron positivos a *Aeromonas*.

En un par de días más un caso similar ocurrió en el edificio Federico Gómez. Se realizaron cultivos ambientales, similar al caso anterior, los cuales fueron negativos. De manera relevante, la paciente, quien estaba severamente inmunocomprometida había sido valorada en diversas ocasiones por personal médico del edificio de oncología. Los cultivos de ambientales fueron negativos. Por biología molecular (a través de electroforesis en gel de campos pulsátiles) todas las cepas de *Aeromonas* fueron la misma especie. Los niveles de cloración del agua de ambos edificios se encontraban entre 2.0 y 3.0 ppm cuando se realizó el aislamiento, lo cual es superior a la concentración mínima biocida para gramnegativos (0.2 ppm)¹⁹.

Se dedujo que posiblemente la fuente de infección eran las mismas tuberías o cisterna (no el agua) las que estaban contaminadas y de manera secundaria contaminaban el agua. Por ello, se llevaron a cabo diferentes métodos de desinfección el edificio de Hemato-oncología: se realizó el lavado de grifos, lavado y desinfección de la cisterna del edificio correspondiente con 300 kg de sal cuaternaria, concentración de 500 ppm de activo libre. Las líneas al ser vaciadas se enjuagaron con agua potable, hasta eliminar los residuos de la solución desinfectante. Los controles de cultivos posterior a estas intervenciones fueron negativos.

Después de varios años de seguimiento no se han vuelto a presentar casos de septicemia por *Aeromonas* en pacientes hospitalizados en el edificio de oncología.

INTRODUCCIÓN

CONTEXTO DEL BROTE

Desde hace alrededor de 10 años existe una mayor asociación entre *Aeromonas spp* con enfermedades relacionadas con seres humanos. Durante este periodo el número de especies ha crecido de 4 hasta 24, creando una nueva familia de bacterias (*Aeromonadaceae*).¹

De éstas solo 5 (*Aeromonas hydrophila*, *A. caviae*, *A. veronii*, *A. jandaei*, and *A. schubertii*) están reconocidas como patógenos humanos, con nuevos síndromes atribuidos a este género incluyendo síndrome urémico hemolítico, sepsis asociada a cuidados de la salud y una variedad de infecciones del tracto respiratorio y gastrointestinal.²

El Hospital Infantil de México cuenta con dos edificios de hospitalización: el edificio Federico Gómez, fundado en 1943 y el edificio de Hemato oncología, fundado en 2013. Ambos edificios reciben agua de distintas cisternas pero con tuberías independientes. Para el año 2014, un año después de su inauguración, el edificio de oncología se encontraba operando con 40 camas de hospitalización, un área de consulta externa, otra para la administración de quimioterapia (corta estancia) y un área para pacientes con trasplante de médula ósea. El Hospital Infantil es un Instituto Nacional de Salud dedicado a atender pacientes que requieren un tercer nivel de atención, por lo que las patologías tratadas en este lugar son complejas y se relacionan con múltiples factores de riesgo para complicaciones intrahospitalarias, entre ellas, las infecciones asociadas al cuidado de la salud. El hospital cuenta con un departamento de Epidemiología encargado de identificar brotes, llevar a cabo la vigilancia epidemiológica con respecto a este tipo de infecciones mencionadas, además de que se cuenta con estudios microbiológicos especiales. Cabe mencionar que no se habían identificado infecciones por *Aeromonas* en los últimos 10 años en el Hospital.

IDENTIFICACIÓN DEL BROTE

Caso clínico 1. Se trata de masculino de 16 años el cual contaba con diagnósticos de base de síndrome de Down y leucemia linfoblástica aguda L2 de alto riesgo de reciente diagnóstico, recibió tratamiento para ventana esteroidea por 7 días, se encontraba en etapa inducción a la remisión en su día 11 de tratamiento (esquema de quimioterapia con vincristina 2 mgm²sc/día, daunorrubicina 30 mgm²sc/semana, L aspart 10 000 Um²sc – 9 dosis, dexametasona 6 mgm²scdía). A los 13 días de hospitalización inició con lesión en piel a nivel de región pectoral caracterizada por zona de hiperemia de 10 cm x 12 cm con necrosis central de 5 cm x 3 cm, y segunda lesión en tercio medio de cara interna de pierna, de 7 cm x 5 cm con halo necrótico

central de 3 cm x 2 cm evoluciona en las próximas 48 h con choque séptico, así como progresión rápida de lesiones de piel a fascitis necrotizante ameritando debridación de tejido necrótico. Recibió tratamiento empírico con meropenem, vancomicina y anfotericina B sin mostrar mejoría. En cultivos de tejido muscular, mediastinal y pleural se aisló *Aeromonas hydrophila*. El paciente falleció a las 24 horas posteriores al inicio de lesiones en piel.



Figura 1. Fotografías de caso clínico 1. En la imagen de la izquierda (A), se observa lesión eritematosa localizada en región pectoral con necrosis central. En imagen de la derecha (B), se observan lesiones en cara interna de pierna de mismas características.

Caso clínico 2. Femenino de 9 años de edad con diagnóstico de probable dermatomiositis juvenil, con sospecha de neoplasia y antecedente de ser valorada por personal médico del servicio de oncología en varias ocasiones; contaba con larga estancia intrahospitalaria, ingresó a hospitalización por presentar cuadro de neumonía complicada con choque séptico, ameritó estancia en unidad de cuidados intensivos; cursó con múltiples procesos infecciosos asociados a los cuidados de la salud, los cuales fueron tratados y remitidos. Posteriormente, continuó tratamiento para patologías de base con esteroide e inmunosupresor metilprednisolona 30mg/kgdosis (5 dosis) y ciclofosfamida 750 mgm2scdía. A los 47 días de estancia intrahospitalaria y 5 días posteriores al inicio del caso uno, inició con fiebre, cambios de coloración en sitio de inserción de línea central femoral derecha (colocada 16 días previos y que se retiró inmediatamente), además de dolor a la palpación de dicha región, evoluciona a taquicardia, hipotensión arterial con evolución rápida a choque séptico refractario a aminas y falla orgánica múltiple, destacando progresión de lesiones de piel a fascitis necrotizante sin respuesta a manejo intensivo, recibió tratamiento empírico a base de meropenem y vancomicina, sin embargo, fallece a las 24 horas posteriores al inicio de los síntomas. En cultivos de sangre, punta de catéter y material de piel de lesión se documentó el aislamiento de *Aeromonas hydrophila*.

ANTECEDENTES

El género *Aeromonas* (*aer-*, del griego: gas; *-monas*: unidades; es decir, unidades productoras de gas), pertenece a la clase de *Gammaproteobacterias*, orden *Aeromonadales*, y familia *Aeromonadaceae*, que abarca tres géneros: *Aeromonas*, *Oceanimonas* y *Tolumonas*.²

Los miembros de este género se caracterizan por bacilos gramnegativos (0.3–1.0 × 1.0–3.5 µm), oxidasa y catalasa positivos, capaces de degradar nitratos a nitritos, fermentadores de glucosa. Este género comprende 36 especies que se consideran autóctonas de los ambientes acuáticos. También están aislados de alimentos, animales y diversos procesos infecciosos en humanos.²

Varias especies de *Aeromonas* se consideran patógenos emergentes porque causaron un amplio espectro de enfermedades en humanos, principalmente gastroenteritis, infecciones de heridas y bacteriemia / septicemia, infectando a inmunocomprometidos e inmunocompetentes. Hasta el momento, los estudios han informado que el 96.5% de las cepas asociadas a casos clínicos se identificaron como una de las cuatro especies: *Aeromonas caviae* (29.9%), *Aeromonas dhakensis* (26.3%), *Aeromonas veronii* (24.8%) y *Aeromonas hydrophila* (15.5 %).²

La virulencia de *Aeromonas* se ha descrito como multifactorial y vinculada a la expresión de genes que codifican diferentes toxinas, componentes estructurales, sistemas de secreción y proteínas. La presencia de estos factores de virulencia permite a las bacterias colonizar, invadir y vencer el mecanismo de respuesta inmune del huésped.³

A pesar de la demostración de su alto potencial patogénico, las estrategias de supervivencia y multiplicación de *A. hydrophila* contra el sistema inmune del huésped no se han dilucidado completamente. Se ha demostrado que los neutrófilos, los mastocitos, los eosinófilos y los macrófagos pueden liberar trampas extracelulares que consisten en un esqueleto de ADN estabilizado por histonas, moléculas antimicrobianas y proteasas. La función principal de éstos es bloquear y matar al patógeno en el sitio de la infección, lo que limita su propagación en el organismo infectado.¹¹

La primera vez que *Aeromonas* fue considerado como un patógeno humano fue en 1954, donde se aisló de la sangre, pulmones, hígado, bazo, orina, líquido cefalorraquídeo (LCR) y partes necróticas de algunos músculos estriados. Se han confirmado muchos más casos de *Aeromonas* con severidad variable, la más común es la gastroenteritis.⁴

Se han publicado varios casos de bacteriemia / septicemia debido a este patógeno. La incidencia de bacteriemia puede variar de 0,12 a 3,3% y la tasa de mortalidad asociada con bacteriemia de *Aeromonas* es de aproximadamente 30%; aunque estudios previos mostraron incidencias del 25%. Las enfermedades

subyacentes encontradas en casos de bacteriemia / septicemia fueron con mayor frecuencia malignidad, enfermedad hepatoiliar y diabetes. Además, los síntomas más comunes asociados con la bacteriemia de *Aeromonas* según Janda y Abbott incluyeron fiebre (74–89%), ictericia (57%), dolor abdominal (16–45%), shock séptico (40–45%) y disnea (12–24%).²

El agua potable ha sido vehículo sospechoso de transmisión en varios casos de diarrea en seres humanos. Se ha reportado que estos microorganismos pueden sobrevivir a los estándares de cloración. En un estudio realizado en las curvas de supervivencia muestran una disminución más rápida de la inviabilidad de *A. hydrophila* a baja temperatura (5 ° C), mientras que a 20 ° C (una temperatura similar a la de los sistemas de distribución de agua en el verano), *A. hydrophila* muestra una mayor resistencia a la actividad oxidante del cloro. Esta diferencia podría depender del hecho de que a 20°C, el cloro libre se inactiva / combina más rápidamente con compuestos con una actividad microbocida reducida.⁷

Se han realizado muy pocos estudios que se centren en la susceptibilidad de las especies de *Aeromonas* a los antimicrobianos. Se ha demostrado que las fluoroquinolonas como la ciprofloxacina son activas contra aislados clínicos de *A. hydrophila*, *A. caviae* y *A. veronii*. Tanto en estudios in vitro como en modelos de ratones, las CIM de las fluoroquinolonas (ciprofloxacina, gatifloxacina, levofloxacina y moxifloxacina) se calcularon a menos de 1 mg / ml para el 90% de los aislamientos clínicos probados.⁹

El uso de fluoroquinolonas como la ciprofloxacina y la cefotaxima son el tratamiento más exitoso para la infección por *Aeromonas*. Los estudios han indicado su actividad tanto in vivo en pacientes infectados como in vitro con aislados clínicos, además de esto, la identificación de cepas resistentes a la fluoroquinolona es aún rara. En los casos en que los pacientes están infectados con múltiples patógenos oportunistas, los tratamientos exitosos son más complicados.⁹

Una de las medidas para detener el crecimiento de *Aeromonas*, es, como se mencionó en párrafos anteriores, la cloración del agua. La cloración puede realizarse mediante gas cloro licuado, solución de hipoclorito sódico o gránulos de hipoclorito cálcico. En cualquiera de estas presentaciones, se disuelve en el agua y forma ión hipoclorito (OCI-) y ácidohipocloroso (HOCl). Puede encontrarse como cloro total y cloro libre, que es la molécula con acción germicida.¹⁴ Se ha aislado *A. hydrophila* de agua potable clorada en Buenos Aires, Argentina, que ha llenado los parámetros de calidad microbiológica.⁷

Para efectos de control sanitario se determina el contenido de indicadores generales de contaminación microbiológica, específicamente organismos coliformes totales y organismos coliformes fecales.¹⁵

Según la Organización Mundial de la Salud, la Unidad de Vigilancia Epidemiológica Hospitalaria en coordinación con las áreas de mantenimiento del

hospital, recomienda realizar cada dos días el monitoreo permanente del cloro residual en cada uno de los servicios. Se vigila que los niveles se mantengan dentro de los niveles permisibles (0.2-1 mg/l). Además de realizar una vez por semana la búsqueda intencionada a través del cultivo de *Vibrio cholerae*. Las enfermedades relacionadas con la contaminación del agua de consumo tienen una gran repercusión en la salud de las personas en particular las hospitalizadas. Las medidas destinadas a mejorar la calidad del agua de hospitalaria tienen efectos significativos.¹⁴

JUSTIFICACIÓN

Las infecciones asociadas a los cuidados de la salud representan un problema de gran importancia clínica y epidemiológica debido a que condicionan mayores tasas de morbilidad y mortalidad, con un incremento consecuente en el costo social de años de vida potencialmente perdidos, así como de años de vida saludables perdidos por muerte prematura o vividos con discapacidades, lo cual se suma al incremento en los días de hospitalización y del gasto económico.

A pesar de que se reconoce a la infección asociada a los cuidados de la salud como una complicación donde se conjugan diversos factores de riesgo y que es susceptible, en la mayoría de los casos de prevenirse, se debe señalar que existen casos en los que se presenta debido a condiciones inherentes al huésped.

Los brotes se definen como dos o más casos de una enfermedad que están relacionados entre sí, ya sea por los síntomas, por el lugar geográfico donde se presentan, o por las características que poseen las personas afectadas.²² En el caso de este reporte, es relevante dar a conocer que una especie microbiológica poco conocida (*Aeromonas*), la cual se relaciona con infecciones gastrointestinales leves principalmente, puede llevar a ser un importante agente etiológico responsable de una variedad de complicaciones infecciosas en pacientes inmunodeprimidos.

En el Hospital Infantil de México Federico Gómez, un Instituto Nacional de Salud de tercer nivel de atención, como se mencionó anteriormente, se atienden pacientes con patologías complejas, en su gran mayoría relacionadas con inmunosupresión (cáncer, enfermedades reumatológicas, inmunológicas, etc.). El hecho de que se detectaran dos pacientes con características en común (inmunosupresión, larga estancia intrahospitalaria, cuadro clínico similar y desenlace fatal) atribuidos a la misma etiología, aunado las condiciones ambientales en las que se encontraban (contaminación de tuberías que consecuentemente contaminaban el agua hospitalaria) hace que se centre la atención en dos aspectos importantes: *Aeromonas hydrophyla* puede ser capaz de desencadenar sepsis fulminante en pacientes inmunocomprometidos y el agua hospitalaria, a pesar de tener niveles adecuados de cloración, puede ser vehículo para infecciones asociadas al cuidado de la salud.

El problema es de gran magnitud y trascendencia, ya que no se habían reportado brotes en el Hospital Infantil de México asociados al agua hospitalaria ni por *Aeromonas*. Por ello, es importante establecer sistemas adecuados de vigilancia epidemiológica que permitan prevenir y controlar las infecciones de este tipo; describir el control de este brote puede ayudar a evitar la aparición o diseminación de otros brotes nosocomiales o mejorar su control tanto en este y otros hospitales.

OBJETIVOS

El objetivo de este reporte es describir el control del brote de sepsis fulminante por *Aeromonas hydrophila* encontrada en el agua hospitalaria que ocurrió en el Hospital Infantil de México Federico Gómez en abril del 2014.

Identificar casos de pacientes con cultivos positivos de *Aeromonas* del periodo 2013-2015.

Identificar cómo se relacionan los factores de riesgo del paciente con la infección por *Aeromonas hydrophila*.

Conocer si las acciones que se realizaron para controlar el brote por *Aeromonas* disminuyeron la incidencia de esta infección en pacientes inmunocomprometidos.

BÚSQUEDA DE DEFINICIÓN DE CASOS

Infección asociada a los cuidados de la salud¹⁷: se define como una condición localizada o generalizada secundaria a la presencia de un agente infeccioso o su toxina y que, además, no estaba presente o en periodo de incubación al momento del ingreso hospitalario o tras 48 a 72 horas posterior al mismo.

Caso confirmado: paciente con datos clínicos sugestivos de infección asociada a cuidados de la salud y cultivo positivo para *Aeromonas hydrophila*.

Caso sospechoso: paciente con datos clínicos sugestivos de infección asociada a los cuidados de la salud sin cultivos o aislamiento de *Aeromonas hydrophila*.

Se documentaron sólo 2 pacientes que cumplían con la definición de caso confirmado, los cuales contaban con las siguientes características:

	Caso 1	Caso 2
Edad y sexo	16 años 1 mes, masculino	9 años 4 meses, femenino
Diagnóstico de base	Leucemia linfoblástica aguda L2 de alto riesgo por edad, en inducción a la remisión, síndrome de Down, catarata bilateral, diabetes mellitus secundaria a uso de esteroides.	Probable dermatomiositis juvenil, probable neoplasia, neumonitis intersticial. Bacteriemias relacionadas a catéter con <i>Klebsiella Oxytoca</i> .
Fecha de inicio	12 04 2014	18 04 2014
Fecha de defunción	13 04 2014	19 04 2014
Cama y servicio	214, oncología	398, reumatología
Edificio de hospitalización	Hemato-Oncología	Federico Gómez
Cuadro clínico	Inicia lesión eritematosa en pectoral que progresa rápidamente con necrosis central, aparición de nuevas lesiones y choque séptico no refractario	Inicia con zonas purpúreas en pierna derecha, abdomen tórax, espalda, que evolucionan a flictenas, con olor fétido, pulpejos de ambas manos necróticos. Evoluciona a choque séptico refractario a aminas.
Tratamiento	Meropenem, vancomicina, anfotericina B	Meropenem, vancomicina
Cultivos	Hemocultivos (2), punción de lesión y tejido muscular: <i>Aeromonas hydrophila</i>	Hemocultivos: <i>Aeromonas hydrophila</i> y <i>K. Penumoniae</i> ; punta de catéter y líquido pared abdominal <i>Aeromonas hydrophila</i> .

Antibiograma	Sensible a amikacina, cefepime, ceftazidima, ceftriaxona, ciprofloxacino, gentamicina, imipenem, nitrofurantoína, piperacilina tazobactam, tobramicina, trimetoprim sulfametoxazol. Resistente a ampicilina, ampicilina sulbactam, cefazolina, cefoxitina.	Sensible a amikacina, cefepime, ceftazidima, ceftriaxona, ciprofloxacino, gentamicina, imipenem, nitrofurantoína, piperacilina tazobactam, tobramicina, trimetoprim sulfametoxazol. Resistente a ampicilina, ampicilina sulbactam, cefazolina, cefoxitina.
--------------	--	--

Tabla 2. Comparación de los dos casos por septicemia fulminante por *Aeromonas hydrophila*. Se observa que ambos pacientes contaban con patologías de base relacionadas con la inmunosupresión (probable neoplasia, leucemia, enfermedad reumatológica), además, a pesar de que se encontraban en edificios diferentes, contaron con un cuadro clínico similar, iniciando con lesiones dérmicas que progresaron a choque séptico el cual fue refractario a tratamiento. Se identificaron en primera instancia *Aeromonas hidrophyla* con mismo patrón de susceptibilidad antimicrobiana.

MÉTODOLÓGÍA

Dado que el paciente del caso 1 era el primer caso con tales características clínicas que se presentaba en el hospital en los últimos 10 años, aunado a su evolución, se consideró como brote, se decidió tomar muestras ambientales (paredes, barandales, periferia del grifo, agua del grifo) de la habitación del caso 1 el día del fallecimiento. Se encontró crecimiento de *A. hydrophila* en agua del grifo y periferia del grifo, ante tal situación se retiraron el grifo y llave de agua se lavaron y esterilizaron, se cultivaron después de este procedimiento agua y grifo y no mostraron crecimiento. Sin embargo, de manera simultánea también se tomó cultivo de agua de otras áreas del edificio de oncología mostrando crecimiento de *A. hydrophila* días después y de manera simultánea con la presentación del segundo caso. Los cultivos de agua de cisterna que provee al edificio del caso 2 fueron negativos, también lo fueron cultivos ambientales y del agua del grifo de la habitación y central de enfermería.

El primer caso se encontraba hospitalizado en el edificio de oncología y el segundo en el edificio Federico Gómez, ambos obtienen agua de una misma cisterna pero con tuberías independientes. Se realizaron nuevos cultivos de tuberías del edificio de oncología siendo persistentemente positivas, no así los cultivos de agua de la cisterna que proveía a ambos edificios.

Ante lo anterior, se consideró que *A. hydrophila* se encontraba en tubería del edificio de oncología. Los niveles de cloración del agua de ambos edificios se encontraban entre 2.0 y 3.0 ppm cuando se realizó el aislamiento, lo cual es superior a la concentración mínima biocida para gramnegativos (0.2 ppm)¹⁹.

Se aisló *Aeromonas hydrophila* del agua y la periferia del grifo de agua corriente, por lo que se amplió una búsqueda intencionada de esta bacteria en las otras áreas del edificio hospitalario, incluyendo superficies, tuberías y cisternas, los cuales fueron positivos. Se realizó análisis fisicoquímico a las muestras de agua provenientes de tuberías y cisternas, también se retiraron grifos y llaves de agua para su lavado y esterilización. Los cultivos después de la esterilización fueron negativos.

No se registró otro caso de septicemia fulminante en el edificio de Hemato oncología.

Se realizó una búsqueda de las infecciones asociadas a los cuidados de la salud en el periodo de 2013 a 2015 a través del sistema de "Vigilancias epidemiológicas" del Hospital Infantil de México Federico Gómez, un año antes y después del brote descrito en este documento: de 1572 pacientes que presentaron infecciones nosocomiales en ese periodo de tiempo, sólo 4 tuvieron aislamiento por *Aeromonas hydrophila*: un aislamiento en 2013 en el edificio Federico Gómez en la antigua área de oncología y en el área de nefrología del mismo edificio en 2015, los

cuales se consideraron como contaminación, además de los 2 casos ya mencionados previamente en abril de 2014 de este reporte.

Aislados clínicos. Se obtuvieron siete aislamientos de pacientes hospitalizados en la unidad de hemato-oncología y del edificio Federico Gómez: los tres primeros, del primer paciente (punta de catéter, material de piel de la lesión y sangre) y los otros cuatro del segundo paciente (tejido muscular, mediastinal, pleural y sangre).

Aislados de medio ambiente. Se identificaron 27 aislados de *A. hydrophila* obtenidos durante el monitoreo ambiental (15 abril, 27 abril, 1° y 4 de mayo) a partir de agua corriente y grifos de diferentes unidades hospitalarias (trasplante de médula ósea (TMO), quimioterapia ambulatoria y Oncología).

Análisis Fisicoquímico del agua: A todas las muestras de agua obtenidas se les determinó, pH, cloro residual y prueba de la fenolftaleína, siguiendo las recomendaciones de las Normas Mexicanas en materia de agua. ^{16, 17, 18 y 19}

AISLAMIENTOS DE AEROMONAS HYDROPHILA

Registro	Número de aislado	Sitio de aislamiento	Sala	Fecha de aislamiento
1	252D	Punta de catéter	Paciente caso 1	13-abril-14
2	259D	Líquido de pared abdominal	Paciente caso 1	13-abril-14
4	214	Agua	2 ^{do} piso	15- abril-14
5	271	Hemocultivo periférico y punta de catéter	Paciente caso 2	19-abril-14
6	TM1	Agua	Trasplante de médula ósea (1 ^{er} piso)	3-mayo-14
7	217	Agua	Oncología 2 ^{do} piso	3-mayo-14
8	209	Agua	Oncología 2 ^{do} piso	3-mayo-14
9	207	Agua	Oncología 2 ^{do} piso	3-mayo-14
10	C-f	Agua	Control de enfermeras	3-mayo-14

Tabla 1. Aislamientos de *Aeromonas hydrophila* en edificio de Hemato-oncología y en pacientes de casos clínicos 1 y 2.

Para asociar el mismo tipo de cepas entre las encontradas en los aislamientos del agua del edificio “Federico Gómez” y las encontradas en ambos pacientes se decidió realizar análisis genómico de las mismas.

El genoma de las cepas fue analizado mediante electroforesis en gel en campos pulsados (PFGE), secuencias consenso repetitivas intragénicas de

enterobacterias (ERIC-PCR) y DNA polimórfico amplificado al azar (RAPD), esta última utilizando los oligonucleótidos OPA-02 y OPA-13. La restricción enzimática de la PFGE se realizó con la enzima Sma I. Para la obtención de DNA genómico se utilizó el estuche "Wizard® Genomic DNA Purification". Las PCRs se realizaron con "GoTaq® Green Master Mix". Los amplificados fueron sometidos a electroforesis y revelados con bromuro de etidio.

La electroforesis en gel de campos pulsados¹⁶ es, en general, una técnica que permite la separación de fragmentos de DNA de alto peso molecular (10 Kb a 10 Mb). En este método, el DNA viaja a través de un gel de agarosa concentrado, bajo la influencia de dos campos eléctricos. Los dos ángulos de los campos eléctricos se encuentran cerca a la perpendicularidad, no son uniformes en la intensidad de campo y cambian de manera alterna (pulsos). En general, se supone que en concentraciones altas de agarosa y con tensiones elevadas, las moléculas grandes de DNA deben ser elongadas a lo largo de la dirección del campo eléctrico con el fin de penetrar a través de los poros del gel. Cuanto más grande sea la molécula de DNA, mayor será el tiempo para encontrar la nueva orientación y la retención en el gel. Las moléculas de igual tamaño migran con velocidades diferentes, dependiendo de su posición inicial en el gel; esto complica la comparación de las movilidades electroforéticas de los DNA que se encuentran en los carriles vecinos por lo que es imposible calcular con precisión el peso molecular. Mediante el análisis de los patrones de PFGE, ya sea de manera visual o utilizando un software, se han podido determinar las similitudes genéticas entre los aislamientos, lo que permite inferir si dos aislamientos aparentemente no relacionados tienen la misma procedencia evolutiva.

La PFGE ha demostrado ser una técnica altamente discriminatoria y por esto es utilizada en estudios epidemiológicos de brotes causados por distintos microorganismos, de predominio gramnegativos. La técnica se ha empleado para reconocer brotes de infección, detectar transmisión cruzada de patógenos nosocomiales, identificar la fuente de infección, reconocer las cepas particularmente virulentas y para el seguimiento de los programas de vacunación, entre otros.

Otro método de tipificación molecular muy utilizado en los estudios de brotes es la rep-PCR. Esta técnica se fundamenta en la utilización de cebadores que hibridan de forma específica con unas secuencias de ADN repetitivas (secuencias rep). que se encuentran dispersas por todo el genoma de muchas bacterias, hongos y parásitos. Hay 3 familias de secuencias repetitivas: las secuencias repetitivas palindrómicas extragénicas (secuencias REP), las secuencias consenso repetitivas intragénicas de enterobacterias (secuencias ERIC, utilizadas en este reporte), y las secuencias o elementos BOX. La técnica de REP-PCR es muy sencilla, rápida (menos de 2 días), reproducible (generalmente más que la AP-PCR pero menos que la ECP) y económica. Los perfiles de ADN presentan un número de bandas inferior. La variabilidad en los perfiles de bandas de ADN generados mediante REP-

PCR viene determinada por el número de secuencias repetitivas y por la distancia que hay entre dichas secuencias (se amplifica la región de ADN).²¹

Por último, el DNA polimórfico amplificado al azar, es, como su nombre lo indica, un método de tipificación molecular en la que se amplifican de fragmentos al azar de ADN a través de la reacción en cadena de la polimerasa. Los fragmentos obtenidos se visualizan como un patrón de bandeo característico del individuo y cada banda observada se considera un locus.²¹

RESULTADOS

Los resultados generados por PFGE mostraron patrones indistinguibles entre las 10 cepas analizadas (figura 3). De igual manera, la técnica de ERIC-PCR generó patrones similares entre las 10 cepas (figura 4), mientras que las amplificaciones al azar (RAPD) revelaron diferencias en los patrones de bandeo del aislado identificado como 10 (respecto a las nueve cepas restantes). Esta cepa fue aislada de control de enfermeras, ubicado en el segundo piso del edificio Hemato-Oncología (figuras 5 y 6).

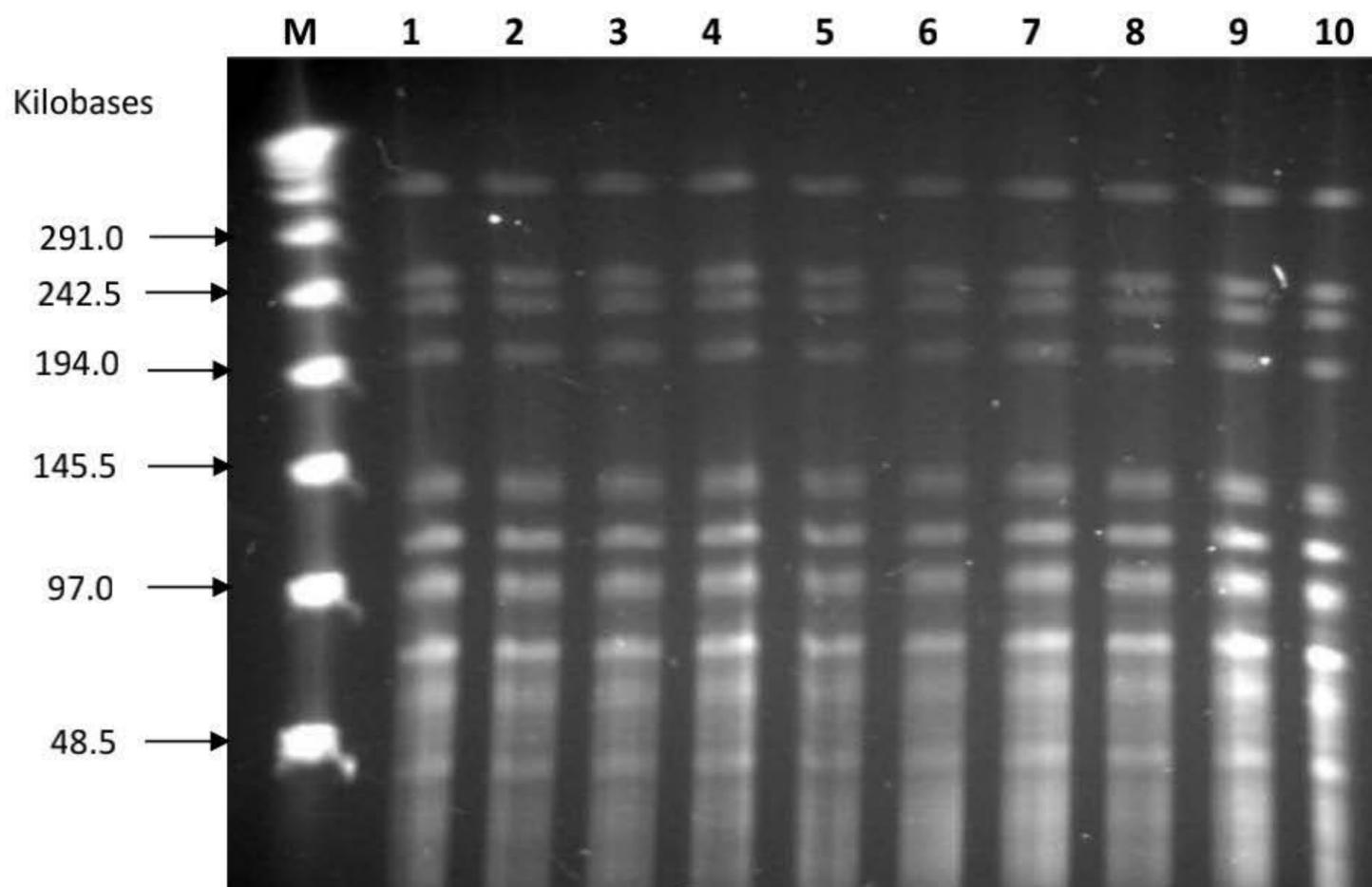


Figura 3: Patrones electroforéticos generados por PFGE de las cepas de *Aeromonas hydrophila* aisladas en el HIMFG. M; Marcador de peso molecular lambda ladder, carriles 1 al 10; cepas de *Aeromonas hydrophila* analizadas.

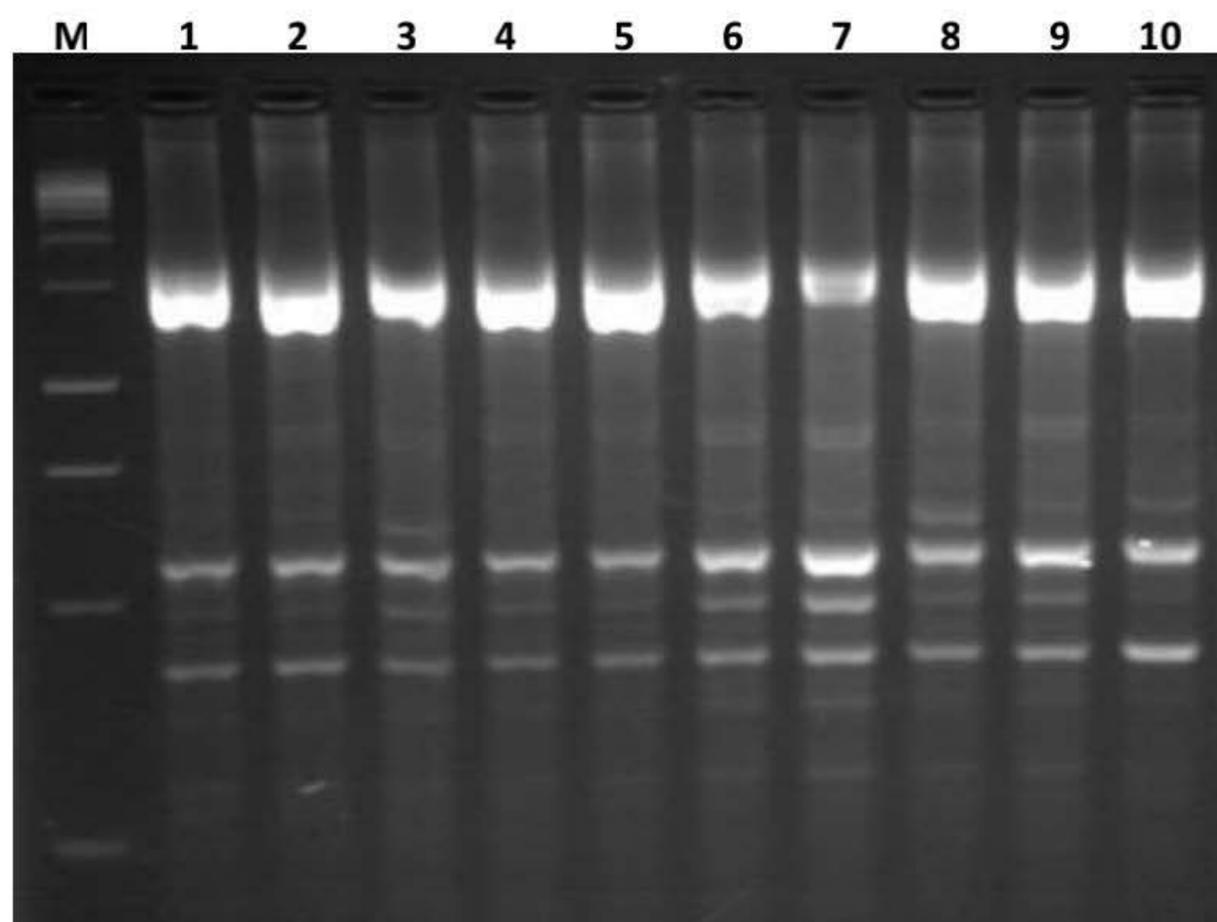


Figura 4: Patrones electroforéticos generados por ERIC-PCR de las cepas de *Aeromonas hydrophila* aislados en el HIMFG. M; Marcador de peso molecular 1 kb DNA Ladder, carriles 1 al 10; cepas de *Aeromonas hydrophila* analizadas.

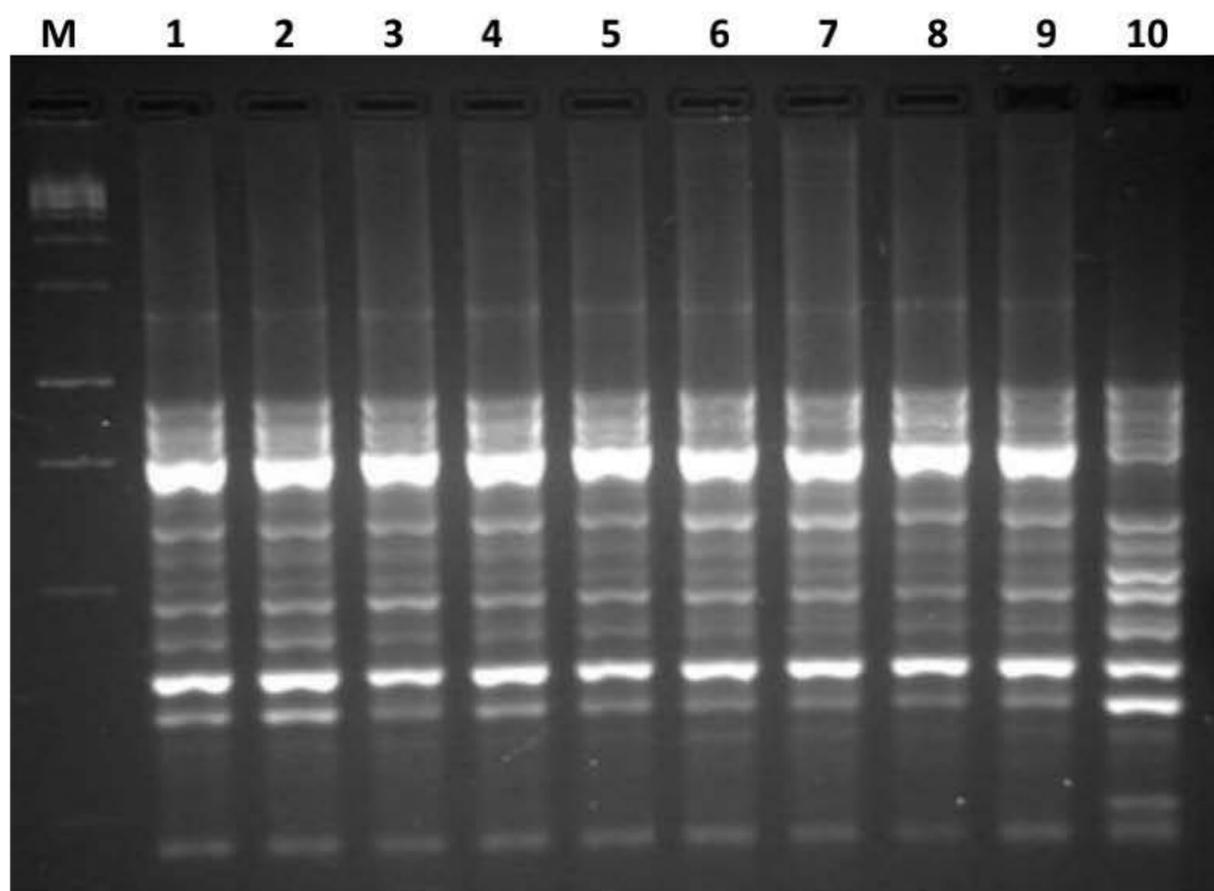


Figura 5: Patrones electroforéticos generados por RAPD (OPA-02) de las cepas de *Aeromonas hydrophila* aislados en el HIMFG. M; Marcador de peso molecular 1 kb DNA Ladder, carriles 1 al 10; cepas de *Aeromonas hydrophila* analizadas.

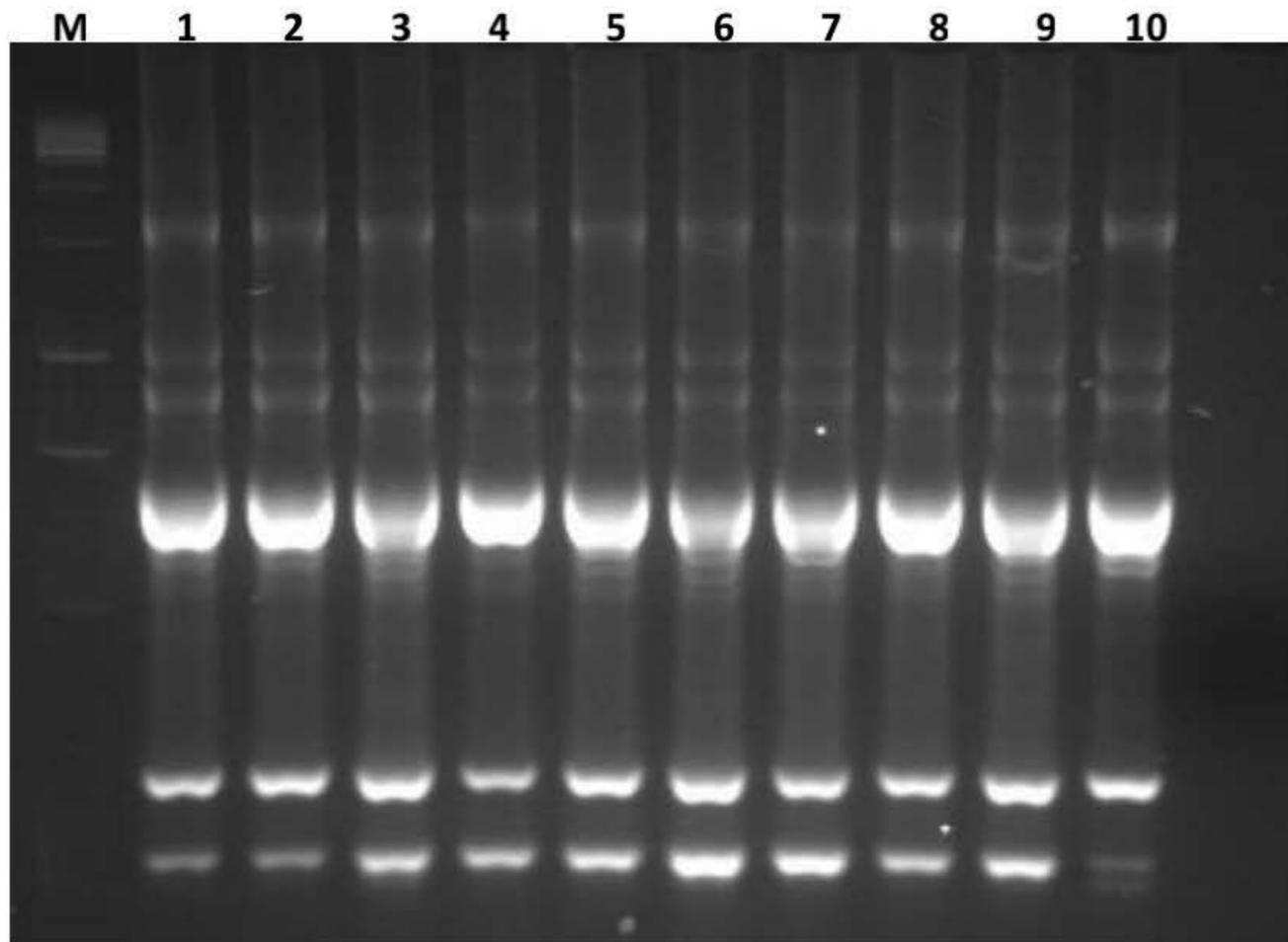


Figura 6: Patrones electroforéticos generados por RAPD (OPA-13) de las cepas de *Aeromonas hydrophila* aislados en el HIMFG. M; Marcador de peso molecular 1 kb DNA Ladder, carriles 1 al 10; cepas de *Aeromonas hydrophila* analizadas.

Se demostró relación genética entre las cepas una a nueve y una estrecha relación genética entre estos y el aislado 10.

INTERVENCIONES

Medidas de intervención para el control de la infección en el área hospitalaria.

La medida de control inicial se basó en intensificar las disposiciones precautorias de contacto con pacientes con la infección por *A. hydrophila*. Como el edificio de oncología se encontraba en 80% de su ocupación se decidió:

- 1.- Dar de alta a la mayor cantidad de pacientes posible, ya que no había sitio en el resto del hospital para traslado.
- 2.- Eliminar *A. hydrophila* de la tubería con un desinfectante inocuo para el humano manteniendo monitoreo mediante cultivos seriados después de la desinfección.
- 3.- Utilizar únicamente alcohol gel para higiene de manos y agua embotellada para baño de pacientes y consumo, hasta que se finalizara el proceso de desinfección de agua.
- 4.- Dejar correr el agua de las llaves de manera periódica.

El laboratorio clínico reportó un cultivo positivo para *A. hydrophila* en la sala de oncología del hospital, por lo que se realizó una toma de muestra de agua de la llave aislando de nuevo la misma bacteria, por lo que se solicita al departamento de mantenimiento lleve a cabo una revisión de la cloración del agua en tuberías y cisternas. Se decidió incrementar la concentración de cloro superando los niveles que marca la norma oficial mexicana^{15,19} de 0.2-1.5 ppm de cloro residual libre. Posterior a esta medida se obtuvieron resultados negativos de crecimiento bacteriano. Sin embargo, al continuar monitoreando las salas mediante búsqueda intencionada se aislaron nueve cepas de *A. hydrophila* en dos salas (Oncología y trasplante de médula ósea), por lo que se lavaron mezcladoras y filtros y se esterilizaron las llaves mezcladoras. Cuatro días después de la cloración se aislaron 12 cepas en tres salas (Trasplante de médula ósea, quimioterapia ambulatoria y oncología).

Al determinar que la presencia de la bacteria era persistente, la dirección médica, de manera conjunta con el departamento de mantenimiento, epidemiología y el laboratorio clínico realizaron una sanitización mediante sales cuaternarias a todo el sistema de almacenamiento y distribución de agua potable del edificio de Hemato-oncología; esta sanitización fue recomendada por una compañía especialista en tratamiento de aguas y el procedimiento se indica a continuación.

Procedimiento de desinfección

Se realizó la desinfección de las líneas hidráulicas del edificio Hemato-oncología, el cual consistió en adicionar 300 kg de sal cuaternaria de amonio (algicida-bactericida) a un volumen de agua, en el cual se obtuvo una concentración de 500 ppm de activo libre. Se procedió a vaciar las líneas de agua y se bombeó y

recirculó la solución desinfectante inundando las líneas. Se dejó reposar por espacio de 1 hora, se vaciaron las líneas y se repitió el procedimiento.

Las líneas al ser vaciadas se enjuagaron con agua potable, hasta eliminar los residuos de la solución desinfectante. Durante una semana se utilizó el agua sólo para limpieza y laboratorios para garantizar que los pacientes no entraran en contacto con residuos de la solución desinfectante.

El sábado 10 de mayo y el lunes 12 se tomaron muestras para evaluar los resultados de la desinfección, siendo éstos negativos.

Procedimientos preventivos.

Aunado a ello, el departamento de mantenimiento realizó el vaciado de la cisterna que provee agua al edificio mencionado, se realizó lavado, desinfección y desincrustación con hipoclorito de sodio al 13% de la cisterna. Se instalaron sistemas de filtración con luz UV y se capacitó al personal para el funcionamiento de los equipos y retrolavado de los mismos. También se llevaron a cabo cursos sobre los procedimientos de limpieza y desinfección de los grifos de estaciones de servicio.

Como parte de las medidas, mensualmente se realiza la toma de muestras de agua de cisternas y tomas de agua de las áreas de trasplante de médula ósea. No se ha reportado otro caso de contaminación hasta el momento.

SECUENCIA DE EVENTOS

La secuencia de eventos para la identificación del brote, se llevó de la siguiente manera:

12/04/2014. Paciente de 16 años hospitalizado en cama 214 de edificio de Hemato oncología del HIMFG, inicia con lesiones eritematosas en zona pectoral, ambas piernas y brazos que evolucionan rápidamente, se vuelven necrozantes, progresaa choque séptico.

13/04/2014. Fallece paciente de cama 214 (caso 1). Se realizan cultivos ambientales.

14/04/2014. Aislamiento de *Aeromonas hydrophila* en cultivo de agua y grifos de habitación 214. Se realiza limpieza exhaustiva.

18/04/2014. Inicia sintomatología paciente femenino de cama 398 de edificio Federico Gómez del HIMFG, lesiones eritematosas que inician en área femoral que progresan a necrosis y choque séptico.

19/04/2014. Fallece paciente de cama 398 (caso 2), con aislamiento de *Aeromonas hydrophila* en cultivos de dicha paciente. Cultivos del entorno ambiental negativos. Sospecha de contaminación del agua del edificio de Hemato oncología.

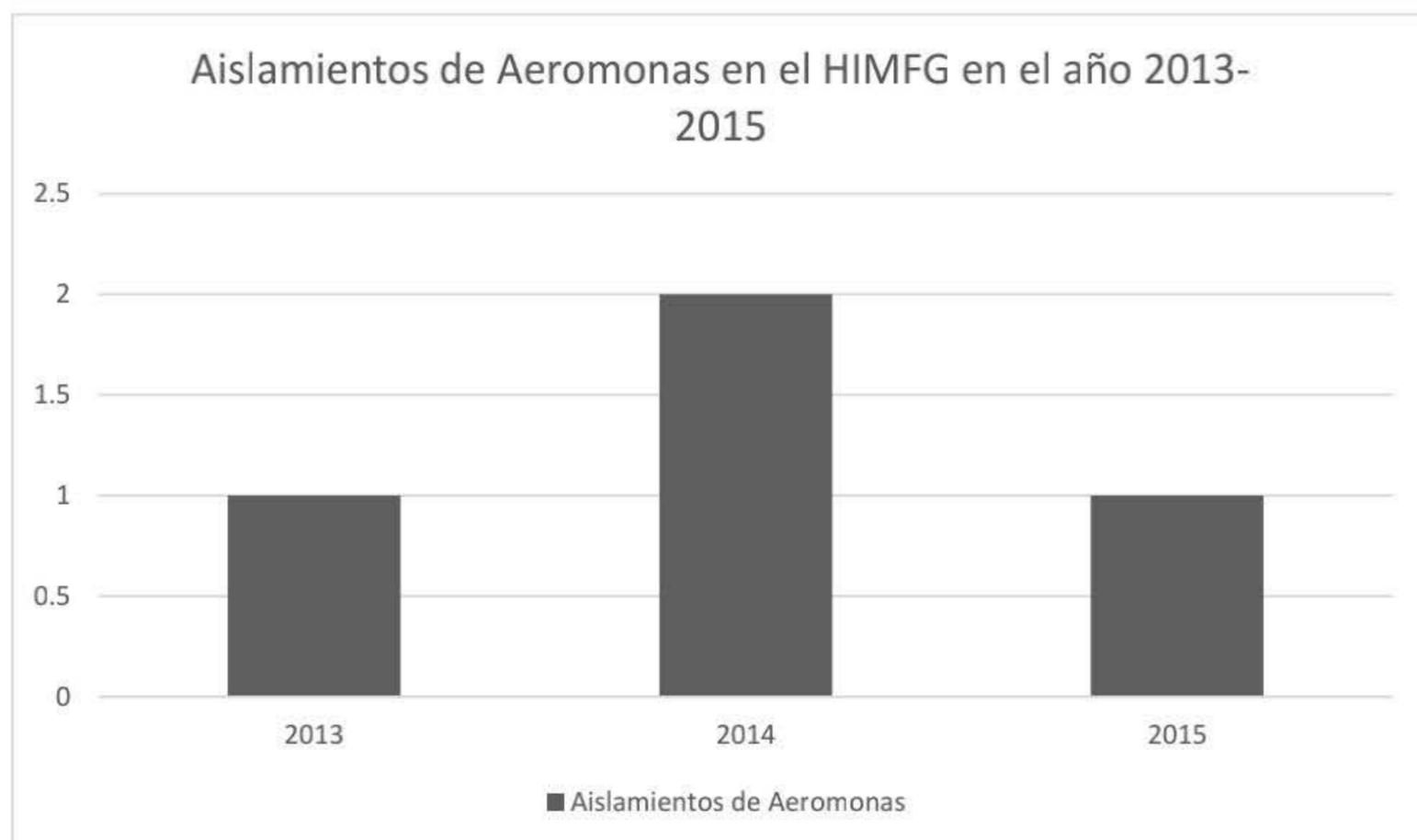
25/04/2014. Se realiza limpieza y esterilización exhaustiva del resto de los grifos del edificio Federico Gómez, así como del agua hospitalaria; se vacía cisterna dejando abiertas las llaves; se limitan ingresos hospitalarios, se da de alta a la mayoría de los pacientes de las salas; baño de pacientes con agua de garrafón y uso exhaustivo de alcohol gel.

03/05/2014. Cultivos de agua de segundo piso y de área de Trasplante de médula ósea con *Aeromonas hydrophila*.

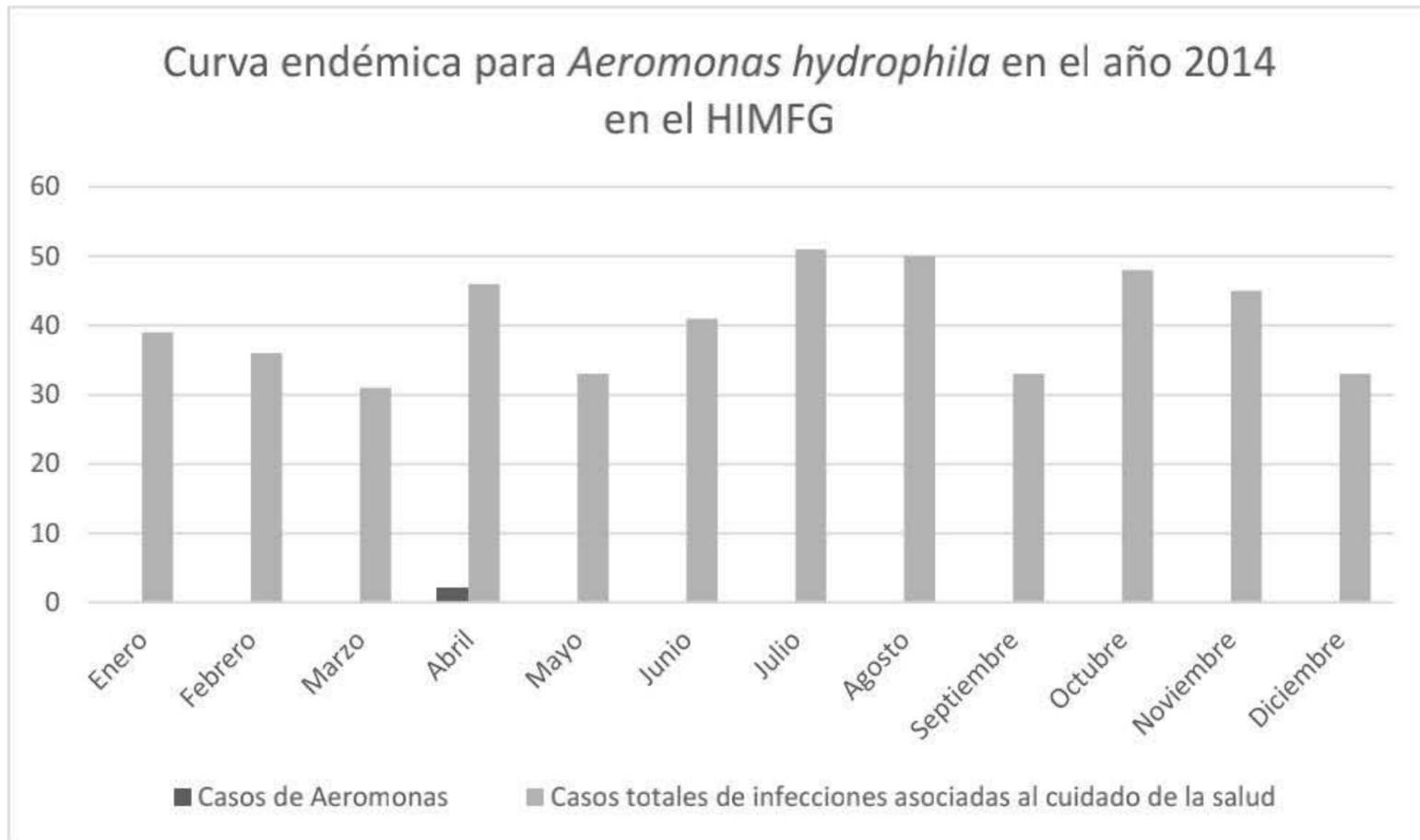
09/05/2014. Limpieza de tuberías con sales de amonio cuaternario (3 lavados).

10 y 12/05/2014. Cultivos de control negativos.

CURVA EPIDÉMICA Y ENDÉMICA



Gráfica 1. Aislamientos de *Aeromonas hydrophila* en el periodo de 2013 a 2015; se identificó un paciente en agosto 2013, dos pacientes (motivo del reporte de brote) en abril de 2014 y uno más en febrero de 2015. Fuente: Vigilancia epidemiológica 2013-2015 del Hospital Infantil de México Federico Gómez.



Gráfica 2. Curva endémica para *Aeromonas hydrophila* comparada con el número total de casos de infecciones asociadas al cuidado de la salud por mes en el año 2014; se observa que no hubo repercusión significativa del brote de *Aeromonas* encontrado en abril de 2014, ya que sólo hubo 2 casos reportados en los 12 meses. *Fuente: Vigilancia epidemiológica 2014 del Hospital Infantil de México Federico Gómez.*

DISCUSIÓN

CONTROL POSTERIOR A INTERVENCIONES

Sitio	Fecha	Resultado
TMO 1, 2 y 3	9 mayo 2014	Negativo
TMO 1, 2 y 3	10 mayo 2014	Negativo
Hospitalización 2 piso	12 mayo 2014	Negativo

Tabla 3. Reporte de cultivos en diferentes zonas del edificio Hemato-oncología del HIMFG. (TMO: trasplante de médula ósea).

Posterior a todas las intervenciones realizadas por el departamento de Epidemiología, mantenimiento y administración del Hospital Infantil de México Federico Gómez, previamente descritas, se demostró negatividad en los cultivos aislados en el aguda de las diferentes zonas del edificio de hemato oncología. Los cultivos del edificio Federico Gómez fueron negativos. No existe relación causal que determine cómo *A. hydrophila* infectó a la paciente del caso 2, ya que el entorno no demostró aislamiento alguno. Se considera que la infección fue adquirida de forma iatrogénica por algún personal sanitario que no llevara a cabo de manera adecuada la técnica de lavado de manos.

Afortunadamente, el brote de septicemia fulminante por *A. hydrophila* sólo se reportaron 2 pacientes, de los cuales el factor de riesgo que destaca en ambos para desencadenar dicha patología está la inmunosupresión. Ambos pacientes fueron tratados con meropenem vancomicina, sin mejoría del cuadro, llevando a la muerte a ambos pacientes.

Aeromonas hydrophila es capaz de generar resistencia al cloro; a pesar de que se contaba con un nivel adecuado de cloración en el edificio de Hemato oncología, e incluso se encontraba por niveles arriba de lo recomendado por la normatividad, se encontró colonizando las tuberías del edificio. Se sospecha que uno de los mecanismos por lo que esta bacteria sobrevivió en las tuberías del hospital se debe a la formación de biofilms.

La septicemia de *A. hydrophila* tiene un curso fulminante y generalmente se ha informado en huéspedes inmunocomprometidos y rara vez en niños.⁸

En 2013, se realizó un reporte de caso en Grecia de un niño con leucemia linfoblástica aguda que desarrolló septicemia fulminante debido a una infección por *A. hydrophila* como la presentación de un episodio febril durante la neutropenia. El paciente se presentó con lesiones gangrenosas con necrosis de la piel del muslo y eventualmente desarrolló una supuración de muslos extensa, fascitis y mionecrosis. La administración inmediata de antimicrobianos y la pronta intervención quirúrgica

dieron como resultado un excelente resultado cosmético y funcional del paciente, incluso en este caso de daño tisular extenso.⁶

En este brote, se reporta rápida evolución a sepsis de dos pacientes con estancia intrahospitalaria prolongada, inmunosupresión importante, los cuales debutaron con datos de respuesta inflamatoria sistémica y con lesiones eritematosas que llegaron a la necrosis de la piel, choque séptico, con mala evolución y sin respuesta a tratamiento antibiótico de amplio espectro y manejo médico, llevando a la muerte a ambos pacientes.

FORTALEZAS Y DEBILIDADES (LIMITACIONES DEL ESTUDIO)

Dado que el suceso sucedió en un hospital de tercer nivel de atención, se cuenta con infraestructura y acceso a estudios más especializados, con lo cual se pudo realizar el aislamiento de *A. hydrophila* tanto en los pacientes como en el entorno hospitalario donde se encontraban, así como la genotipificación.

El estudio cuenta con poca muestra para ser estadísticamente significativo, sin embargo, debido a las intervenciones realizadas no se documentó ningún otro caso de sepsis fulminante en ningún otro paciente, así como ningún aislamiento en el agua hospitalaria.

CONCLUSIONES

Aeromonas hydrophila es un patógeno que infecta a pacientes inmunocomprometidos y pueden ser capaces de generar resistencia al cloro a pesar de adecuadas concentraciones del mismo en agua, incluso puede ser generador de biofilms.

La emergencia de microorganismos como las *Aeromonas* amplían el conocimiento de los aspectos de virulencia, patogenicidad, de biología molecular, epidemiología y reconocimiento de la secuencia del genoma bacteriano, como una ventana para adentrarse en la evolución y fisiología que ayudan al entendimiento adecuado para así estar en condiciones de saber si son patógenos al hombre o no, por lo que representan retos a los investigadores, que nos obligan a estar pendientes de la información actualizada.

Utilizar una técnica adecuada de manos es eficaz para la prevención de infecciones nosocomiales.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

	Feb 2020	Mar 2020	Abr 2020	May 2020	Jun 2020	Jul 2020	Ago- Dic 2020	Enero- marzo 2020
Desarrollo del proyecto								
Sustentación de la tesis								
Desarrollo de la tesis								
Revisión de casos y documentación								
Integración de la información								
Informe de resultados								

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Janda JM, Abbott SL. The genus *Aeromonas*: Taxonomy, pathogenicity, and infection. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23:35–73.
2. Fernández-Bravo A, Figueras MJ. An Update on the Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Epidemiology, and Pathogenicity. *Microorganisms.* 2020;8(1):129. Published 2020 Jan 17. doi:10.3390/microorganisms8010129.
3. Chao CM, Lai CC, Gau SJ, Hsueh PR. Skin and soft tissue infection caused by *Aeromonas* species in cancer patients. *J Microbiol Immunol Infect.* 2013;46(2):144-146. doi:10.1016/j.jmii.2013.02.006
4. Bondi M. Virulence profiles and other biological characters in water isolated *Aeromonas hydrophila*. *New Microbiol* 2000; 23: 347-56
5. Sisti M, Albano A, Brandi G. Bactericidal effect of chlorine on motile *Aeromonas* spp. in drinking water supplies and influence of temperature on disinfection efficacy. *Lett Appl Microbiol.* 1998;26(5):347-351. doi:10.1046/j.1472-765x.1998.00346.
6. Papadakis V, Poniros N, Katsibardi K, Charissiadou AE, Anastasopoulos J, Polychronopoulou S. Fulminant *Aeromonas hydrophila* infection during acute lymphoblastic leukemia treatment. *J Microbiol Immunol Infect.* 2012;45(2):154-157. doi:10.1016/j.jmii.2011.09.008
7. Chuang HC, Ho YH, Lay CJ, Wang LS, Tsai YS, Tsai CC. Diferentes características clínicas entre *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii* biovar sobria y *Aeromonas caviae* bacteriemia monomicrobiana. *J Korean Med Sci.* 2011; 26 (11): 1415-1420. doi: 10.3346 / jkms.2011.26.11.1415
8. Bondi M. Virulence profiles and other biological characters in water isolated *Aeromonas hydrophila*. *New Microbiol* 2000; 23: 347-56.
9. Ko WC, Chuang YC. *Aeromonas* bacteremia: review of 59 episodes. *Clin Infect Dis.* 1995;20(5):1298-1304. doi:10.1093/clinids/20.5.1298
10. José Antonio Frías-Salcedo. El género *Aeromonas* como patógeno humano. *Rev Sanid Milit Mex* 2004; 58(4) Jul.-Ago: 321-323.
11. Goldmann O, Medina E. El mundo en expansión de las trampas extracelulares: no solo neutrófilos sino mucho más. *Front Immunol* 2013; 3 : 420; PMID: 23335924; <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2012.00420>
12. Citterio, Barbara y Biavasco Francesca. "Virulencia de *Aeromonas hydrophila*". *Virulencia* vol. 6,5 (2015): 417-8. doi: 10.1080 / 21505594.2015.1058479

13. Kompanets EV, Isaeva NM, Balakhnin IA. Bakterii roda Aeromonas i ikh rol' v akvakul'ture [Bacteria of the genus Aeromonas and their role in aquaculture]. *Mikrobiol Zh.* 1992;54(4):89-99.
14. Guías para la calidad del agua potable. Primer apéndice a la tercera edición. (2006a) Vol.1. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza
15. MODIFICACION a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Mayo 2021 [Internet].
16. Cardozo-Bernal, et al. Electroforesis en Gel de Campo Pulsado (PFGE) para la diferenciación molecular de *Listeria monocytogenes*. *Univ. Sci.* 2013, Vol. 18 (2): 203-222.
17. Galván-Meléndez MF, Castañeda-Martínez LY, Galindo-Burciaga M, Morales-Castro ME. *Infecciones asociadas con la atención de la salud y su resistencia antimicrobiana*. *Rev Esp Méd Quir.* 2017 ene;22(1):1-13
18. NMX-AA-008-SCFI-2016: Norma Oficial Mexicana para el análisis de agua, medición de pH en aguas naturales, residuales y residuales tratadas – método de prueba. Mayo 2021 [Internet]
19. NMX-AA-108-SCFI-2001: Norma Oficial Mexicana para la calidad del agua, determinación de cloro libre y cloro total - método de prueba. Mayo 2021 [Internet]
20. NMX-AA-036-SCFI-2001: Norma Oficial Mexicana para el análisis de agua, determinación de acidez y alcalinidad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba. Mayo 2021 [Internet]
21. F. Fernández Cuenca, et al. *Técnicas de tipificación molecular para la vigilancia y control de la infección*. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2013;31(Supl 1):20-25.
22. García GJJ: Fundamentos para el estudio de un brote epidémico • *Rev Mex Pediatr* 2002; 69(5); 208-211.