

Accepted Manuscript / Manuscrito Aceptado

Title Paper/Título del artículo:

Detección de SARS-CoV-2 y agentes causantes de infecciones nosocomiales en instalaciones hospitalarias

Surveillance of SARS-CoV-2 and nosocomial infections causing agents in healthcare settings

Authors/Autores: Medrano-Félix, J.A., Lira-Morales, J.D., Gurrola-López, V.L., Chaidez, C., Martínez-Rodríguez, C.I., Castro-del Campo, N.

ID: e1781

DOI: <https://doi.org/10.15741/revbio.12.e1781>

Received/Fecha de recepción: October 10th 2024

Accepted /Fecha de aceptación: December 20th 2024

Available online/Fecha de publicación: January 7th 2025

Please cite this article as/Como citar este artículo: Medrano-Félix, J.A., Lira-Morales, J.D., Gurrola-López, V.L., Chaidez, C., Martínez-Rodríguez, C.I., Castro-del Campo, N. (2025). Surveillance of SARS-CoV-2 and nosocomial infections causing agents in healthcare settings. *Revista Bio Ciencias*, 12, e1781. <https://doi.org/10.15741/revbio.12.e1781>

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Este archivo PDF es un manuscrito no editado que ha sido aceptado para publicación. Esto es parte de un servicio de Revista Bio Ciencias para proveer a los autores de una versión rápida del manuscrito. Sin embargo, el manuscrito ingresará a proceso de edición y corrección de estilo antes de publicar la versión final. Por favor note que la versión actual puede contener errores de forma.

Artículo original

Detección de SARS-CoV-2 y agentes causantes de infecciones nosocomiales en instalaciones hospitalarias

Surveillance of SARS-CoV-2 and nosocomial infections causing agents in healthcare settings

SARS-CoV-2 en hospital/ SARS-CoV-2 in hospital

Medrano-Félix, J.A.¹(0000-0003-4963-2175^{ORCID}), Lira-Morales, J.D.² (0000-0002-7558-3963^{ORCID}), Gurrola-López, V.L.², Chaidez, C.²(0000-0001-5071-8270^{ORCID}), Martínez-Rodríguez, C.I.¹, Castro-del Campo, N.^{2*}(0000-0002-0738-492x^{ORCID})

¹Investigadoras e Investigadores por México-Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Carretera a Eldorado km 5.5, campo El Diez, C.P. 80110, Culiacán, Sinaloa, México.

²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Laboratorio Nacional para la investigación en Inocuidad Alimentaria (LANIIA). Carretera a Eldorado km. 5.5, campo El Diez, C.P. 80110, Culiacán, Sinaloa, México, Zip Code 80110

*Corresponding Author:

Nohelia Castro-del Campo. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Laboratorio Nacional para la investigación en Inocuidad Alimentaria (LANIIA). Carretera a Eldorado km. 5.5, campo El Diez, C.P. 80110, Culiacán, Sinaloa, México. Teléfono: (667) 480 6950. E-mail: ncastro@ciad.mx

RESUMEN

El virus SARS-CoV-2 ha afectado a millones de personas en todo el mundo y ha provocado millones de hospitalizaciones, lo que representa una fuente potencial de infecciones nosocomiales para el personal médico y los pacientes, así como de propagación del virus. Este estudio se centró en la detección del SARS-CoV-2, así como de *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y *Staphylococcus aureus* en ambientes hospitalarios, incluidas las unidades de cuidados intensivos para adultos, unidades de cuidados intensivos pediátricos y unidades de cuidados COVID-19. Los resultados mostraron la presencia del virus SARS-CoV-2 en muestras de superficies de la unidad de cuidados de COVID-19, detectando la presencia de la variante Delta. Adicionalmente, los resultados mostraron la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* en las superficies del hospital. La presencia de SARS-CoV-2 y bacterias nosocomiales resaltan la importancia de la vigilancia microbiológica constante para prevenir las coinfecciones y la aparición de infecciones nosocomiales durante la hospitalización.

PALABRAS CLAVE:

SARS-CoV-2, infecciones nosocomiales, Hospital, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*

ABSTRACT

SARS-CoV-2 has affected millions of people around the world and resulted in millions of hospitalizations, where it represents a potential source of nosocomial infections for medical staff and patients and the spread of the virus. This study focused on the detection of SARS-CoV-2 as well as *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, and *Staphylococcus aureus* in healthcare settings, including intensive care units, pediatric intensive care units, and COVID-19 care units. The results showed that SARS-CoV-2 was present in surface samples from the COVID-19 care unit, which detected the presence of the Delta variant. Furthermore, results showed the presence of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* on hospital surfaces. The presence of SARS-CoV-2 and nosocomial bacteria highlights the importance of constant microbiological monitoring to prevent co-infections and the occurrence of nosocomial infections during hospitalization.

KEYWORDS:

SARS-CoV-2, nosocomial infections, Hospital, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*.

Introducción

COVID-19, enfermedad causada por el SARS-CoV-2 y declarada pandemia en 2020, ha afectado la salud de millones de personas en todo el mundo y ha provocado 664,873,023 casos confirmados (WHO, 2023). Los Centros para Control de Enfermedades de Estados Unidos (CDC) reportan 101,873,730 casos, algunos de los cuales requirieron hospitalización, lo que representa 5,866,347 hospitalizaciones por COVID-19 del 1 de agosto de 2020 al 23 de enero de 2023. Los datos de México reportan 7,348,292 casos confirmados, de los cuales el 9,79 % requirieron hospitalización. Durante su hospitalización, los pacientes corren el riesgo de contraer infecciones nosocomiales (CDC, 2023; CONACYT, 2023); Bardi *et al.* (2021) encontraron que el 40,7 % de los pacientes adquirieron infecciones causadas por bacterias y hongos durante su estancia en la unidad de cuidados intensivos, y los microorganismos predominantes fueron bacterias gram positivas (55 %). En este sentido, varios estudios han demostrado la presencia de agentes causantes de infecciones nosocomiales, tales como *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*; su presencia y resistencia a antimicrobianos como trimetoprima-sulfametoxazol, oxacilina, vancomicina, meropenem, colistina, ceftazidima, entre otros, en el entorno hospitalario, pueden representar un riesgo potencial para los pacientes durante su hospitalización, particularmente en las unidades de cuidados intensivos (Esfahani *et al.*, 2017; Rhoden *et al.*, 2021; Aiesh *et al.*, 2023; Tarigan *et al.*, 2023). Estos estudios sugieren que la presencia de *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* son los agentes más comunes de neumonía entre los pacientes con COVID-19, lo cual es altamente alarmante debido al impacto de padecer COVID-19 y las complicaciones para los pacientes como producto de la coinfección con este tipo de microorganismos en las unidades de cuidados intensivos (Mohammadnejad *et al.*, 2021).

La incidencia de infecciones nosocomiales asociadas a COVID-19 puede variar según la investigación, tanto en porcentaje como en afectación de órganos. Cheng *et*

al. (2020) reportaron una incidencia de 14,6 2% de infecciones bacterianas nosocomiales en pacientes con COVID-19 en China, de las cuales 38,71 % estaban relacionadas con el tracto respiratorio inferior, lo que sugiere una asociación significativa con la edad. Otro estudio en Singapur reportó la asociación de COVID-19 con infecciones nosocomiales del tracto urinario en pacientes durante su estadía en la unidad de cuidados intensivos (Ong *et al.*, 2021). La presencia de SARS-CoV-2 en el entorno hospitalario ha sido ampliamente estudiada en todo el mundo con la finalidad de comprender la transmisión aérea de este patógeno. Estos estudios sugieren que las partículas virales del SARS-CoV-2 podrían circular en entornos hospitalarios a través de aerosoles, contribuyendo potencialmente a la transmisión del virus a largo plazo; esta información es de relevancia para reforzar las medidas de control y prevención de infecciones en entornos de atención médica (De Sousa *et al.*, 2021; Du *et al.*, 2021; Linde *et al.*, 2023). Moharir *et al.* (2022) han encontrado la presencia del SARS-CoV-2 en muestras de aire y superficies de habitaciones de pacientes con COVID-19, lo que sustenta la idea de la transmisión aérea como un riesgo potencial de transmisión del virus y el riesgo de infección por SARS-CoV-2, así como la aparición de infecciones nosocomiales en pacientes con COVID-19 y personal médico (Zhou *et al.*, 2020). Con base a lo anterior planteado, el presente estudio tuvo como objetivo detectar patógenos bacterianos relacionados con el SARS-CoV-2 y las infecciones nosocomiales de un entorno hospitalario durante las olas críticas de COVID-19 que ocurrieron en México.

Material y Métodos

El presente estudio se realizó en ambientes intrahospitalarios en Ahome, Sinaloa, México; el muestreo se realizó en superficies como lavabos, camas y aire ambiental de las unidades de cuidados intensivos (ICU), unidad de cuidados intensivos pediátricos (PICU) y unidad de cuidados COVID-19. El muestreo se llevó a cabo de noviembre de 2021 a marzo de 2022 en intervalos de 15 días, para un total de 7 visitas. En cada visita se recolectaron tres muestras de aire, una en cada unidad seleccionada para la toma de muestra (ICU, PICU y unidad de cuidados COVID-19), traduciéndose en 42,000 L de aire muestreado en este estudio. Por otro lado, durante las mismas visitas, se recolectaron dos muestras de superficie (cama y lavabo) para un total de 42 muestras de superficie.

Muestras de superficies

Las muestras de superficie se recolectaron utilizando hisopos de esponja estériles (Whirl-pak, Nasco, EE. UU.) pre-humedecidos con 10 mL de solución tampón de fosfato estéril. Para ello, se frotó cada superficie con una esponja, concentrándose en cubrir toda la superficie de los pasamanos y los lavabos. Después del muestreo, cada esponja se ajustó a un volumen de 25 mL con una solución tampón de fosfato estéril para su análisis microbiológico.

Muestras de aire

El muestreo de aire se realizó utilizando el dispositivo de filtración de aire MD8 Airport (Sartorius, Alemania), siguiendo las instrucciones del fabricante, dicho equipo

es diseñado para la captura de patógenos transmitidos por el aire y consiste en el uso de cartuchos de filtro de membrana de gelatina con un tamaño de poro de 3 μm y un diámetro de 80 mm. El muestreador de aire se programó a 50 L min^{-1} durante 40 min para un volumen total de 2000 L. Una vez recolectada la muestra de aire, se retiró el cartucho de gelatina y se colocó en una hielera a temperatura de refrigeración para su transporte al laboratorio. Para la preparación de la muestra, cada filtro se procesó de acuerdo con las instrucciones del fabricante; brevemente, la matriz de gelatina se retiró y se colocó en un tubo cónico de 50 mL suplementado con 3 mL de agua libre de nucleasas y se centrifugó a 3000 g, seguido de una incubación en un agitador térmico a 37 °C durante 10 min para disolver el filtro. El muestreo de cada Unidad consideró cinco puntos equidistantes en cada habitación para asegurar un muestreo homogéneo y representativo de las habitaciones, con el tiempo de muestreo en cada punto distribuido uniformemente.

Confirmación microbiológica

El análisis bacteriológico se llevó a cabo únicamente para las muestras de superficies. Este se realizó siguiendo el método estándar internacional ISO 4833-2:2013 para la detección de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Acinetobacter baumannii* utilizando medios de cultivo selectivos como cetrimida-agar selectivo, agar sal y manitol y agar MacConkey con suplemento de gentamicina 8 mg L^{-1} . Brevemente, se tomó una alícuota de 1 mL de la muestra previamente homogeneizada para obtener diluciones decimales de 10^{-1} y 10^{-2} , las cuales fueron utilizadas para procesarse mediante la técnica de extensión en placa; las muestras fueron incubadas a 36 °C por 24 h. En este sentido, cada muestra y dilución decimal fue extendida por triplicado. Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias (CFU) por superficie (Norma Internacional. ISO 4833-2:2013; NOM-210-SSA1-2014).

Extracción de ácidos nucleicos

La extracción de RNA viral, se realizó a partir de una alícuota de 200 μL de muestra de superficie y aire, empleando el sistema automatizado de ácidos nucleicos TACO, el cual se basa en el empleo de perlas magnéticas (GENE Reach, Taiwán), utilizando el protocolo de extracción de DNA/RNA recomendada por el fabricante. Para la extracción de DNA bacteriano, se procesaron CFU presuntivas para *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y *Staphylococcus aureus* con la solución Quick Extract (Lucigen, EE. UU.). Brevemente, se colocó una CFU en 100 μL de la solución Quick Extract, seguido de agitación durante 15 s, incubación a 65 °C durante 6 min, agitación durante 15 s y calentamiento a 98 °C durante 2 min. Los ácidos nucleicos se almacenaron a -20 °C hasta su uso.

Identificación por PCR

La detección del RNA viral se realizó mediante RT-PCR en tiempo real utilizando el kit CoviFlu multiplex (Genes2Life) para el gen de la nucleocápside del SARS-CoV-2 según las instrucciones del fabricante, utilizando los primers y sondas específicas para el gen de la nucleocápside del SARS-CoV-2 con una mezcla de 14.5 μL CoviFlu Primer Mix, 5 μL Buffer 5X y 0.5 μL enzima y 5 μL RNA. El protocolo de amplificación

se llevó a cabo en un termociclador CFX-96 (BioRad, USA) bajo las siguientes condiciones de reacción: 50 °C por 30 min, 95 °C por 5 min, seguido de 45 ciclos a 95 °C por 15 s y 62 °C por 30 s. Una muestra se consideró positiva si el Ct de las muestras era inferior a 38, y tanto los controles positivos como los negativos se comportaron como se esperaba, lo que se indicó como un comportamiento de curva gaussiana para cada control, y con valores de Ct inferiores a 38 ciclos cada uno. De acuerdo al fabricante, el kit CoviFlu multiplex tiene un límite de detección de alrededor de 50 copias por reacción para el RNA viral del SARS-CoV-2.

Las CFU presuntivas para *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y *Staphylococcus aureus* se confirmaron mediante PCR en tiempo real utilizando el kit iTaq Universal SYBR Green Supermix (Bio-Rad, EE. UU.) con la siguiente mezcla de reacción: iTaq Universal SYBR Green Supermix 1X, 0,1 µM de cada cebador y 3 µL de DNA eluido para un total de 10 µL. Los iniciadores empleados en este trabajo para cada bacteria fueron las siguientes: 5'-CTGGGTCGAAAGGTGGTTGTTATC-3' y 5'-GCGGCTGGTGCGGCTGAGTC-3' para *Pseudomonas aeruginosa* (Choi *et al.*, 2013), con las siguientes condiciones de reacción: un ciclo inicial de desnaturalización a 95 °C durante 3 min, 35 ciclos a 95 °C durante 60 s, 63°C durante 30 s, y 63 °C y 72 °C durante 60 s, seguido de una extensión final a 72 °C durante 10 min, para obtener un tamaño de amplicón de 232 pb. Para *Acinetobacter baumannii* (Chiang *et al.*, 2011) se utilizaron los iniciadores 5'-CATTATCACGGTAATTAGTG-3' y 5'-AGAGCACTGTGCACTTAAG-3', con las siguientes condiciones de reacción: un ciclo inicial de 94 °C durante 5 min y 35 ciclos de 94 °C durante 60 s, 62 °C durante 60 s y 72 °C durante 60 s; y una extensión final a 72 °C durante 10 min para obtener un producto de 208 pb. Finalmente, para la confirmación de *Staphylococcus aureus*, se emplearon los iniciadores 5'-GCGATTGATGGTGATACGGTT-3' y 5' AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC-3' (Hamdan-Partida *et al.*, 2015) con las siguientes condiciones de reacción: un ciclo inicial de 94 °C durante 5 min, 10 ciclos de 94 °C durante 40 s, 68 °C durante 40 s y 72 °C durante 1 min, seguido de 25 ciclos de 94 °C durante 60 s, 58 °C durante 60 s, 72 °C durante 2 min y una extensión final a 72 °C durante 10 min, para un tamaño de fragmento de 279 pb.

Para cada caso, se utilizaron las cepas estándar de *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9721 como controles positivos, y cada corrida tuvo un control sin templado (NTC). Los resultados se visualizaron utilizando el paquete Bio-Rad CFX Maestro versión 1.0 (4.0.2325.0418).

Secuenciación de muestras positivas para partículas virales

Las muestras positivas se secuenciaron utilizando la plataforma de secuenciación Illumina MiniSeq (protocolo paired end 2 x 150 PB, 300 ciclos). Las bibliotecas genómicas se prepararon con el kit de preparación de bibliotecas Nextera XT (Illumina, San Diego, CA, EE.UU.) de acuerdo con las instrucciones del fabricante y se cuantificaron utilizando un fluorómetro Qubit 2.0 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE.UU.). Las secuencias obtenidas se filtraron, ensamblaron y convirtieron a formato FASTA y se analizaron de acuerdo con el flujo de trabajo "Comprehensive workflow for detecting coronavirus using Illumina benchtop systems".

Para determinar los linajes de las variantes del SARS-CoV-2, las secuencias y sus metadatos se depositaron en la base de datos GISAID (Global Initiative on Sharing All Influenza Data) para garantizar el inmediato acceso público.

Secuenciación de muestras positivas para partículas virales

Un árbol filogenético se construyó a partir de secuencias representativas obtenidas de GISAID EPI_SET_240709vn, disponibles en la liga [10.55876/gis8.240709vn](https://gis8.240709vn), recolectadas de Sinaloa entre el 04-11-2021 y 28-03-2022, incluyendo las secuencias obtenidas en este estudio. El alineamiento múltiple se realizó utilizando el algoritmo MAFFT versión 7 (<https://mafft.cbrc.jp>), el árbol filogenético se construyó utilizando FastTree (<http://www.microbesonline.org/fasttree/>) con opciones default.

Resultados y Discusión

Detección de SARS-CoV-2 en muestras de aire

Los resultados mostraron que el virus SARS-CoV-2 no fue detectado en muestras de aire del ambiente hospitalario, incluida la unidad de cuidados intensivos (ICU), unidad de cuidados intensivos pediátricos (PICU) y unidad de cuidados COVID-19. De un total de 20 muestras analizadas, la RT-PCR en tiempo real no reveló evidencia de la presencia de RNA viral en las muestras de aire. En este sentido, la visualización de las curvas de RT-PCR en tiempo real no reveló evidencia de amplificación de los virus en este estudio. Sin embargo, fue posible observar el comportamiento de amplificación del gen RP, que se detectó de manera consistente en las muestras analizadas. Esto indica que los procesos de extracción de RNA, retro-transcripción y amplificación fueron exitosos en todas las muestras. Esto garantiza que los resultados negativos indican la ausencia de partículas virales o RNA viral y no un proceso inadecuado de extracción de RNA.

Los resultados de este estudio difieren de otros estudios que informan la presencia de SARS-CoV-2 en muestras de aire; de Sousa *et al.* (2021) detectaron SARS-CoV-2 en muestras de aire de un ambiente hospitalario en Suecia y reportaron un 42 y un 45 % de muestras positivas en habitaciones de pacientes y antesalas adyacentes, respectivamente. Se sugiere que la no detección de SARS-CoV-2 en nuestro estudio en comparación con Sousa *et al.* (2021) podría deberse al equipo de filtración de aire y al volumen de aire filtrado. No obstante, también existen estudios que demuestran la ausencia de SARS-CoV-2 en aire de ambientes de hospitales; según Lane *et al.* (2021a), de 576 muestras de aerosoles, ninguna fue positiva para SARS-CoV-2, destacando la importancia de los controles ambientales como la ventilación, los sistemas de presión negativa y la limpieza, así como el uso de equipos de protección personal, cuya prevención es crucial para reducir la transmisión viral (Landoas *et al.*, 2021).

Detección de SARS-CoV-2 en superficies

Los resultados para SARS-CoV-2 en superficies de hospital mostraron la presencia de RNA viral en 4 muestras, lo que indica la presencia de RNA viral en el 10 % de las muestras durante este estudio (Figura 1). De manera particular, de las áreas monitoreadas, todas las muestras de la unidad de cuidados intensivos y la unidad de cuidados intensivos pediátricos se reportaron negativas para la presencia de SARS-CoV-2. Por otro lado, la presencia de muestras positivas se detectó solo en la unidad de cuidados de COVID-19, especialmente en muestras de pasamanos de camas. Nuestros resultados son consistentes con los de Ye *et al.* (2020), quienes encontraron que el área más contaminada con SARS-CoV-2 fue la unidad de cuidados de COVID-19, lo que sugiere que el ambiente hospitalario podría ser una fuente potencial de propagación del virus, incluso entre el personal médico, pacientes y visitantes.

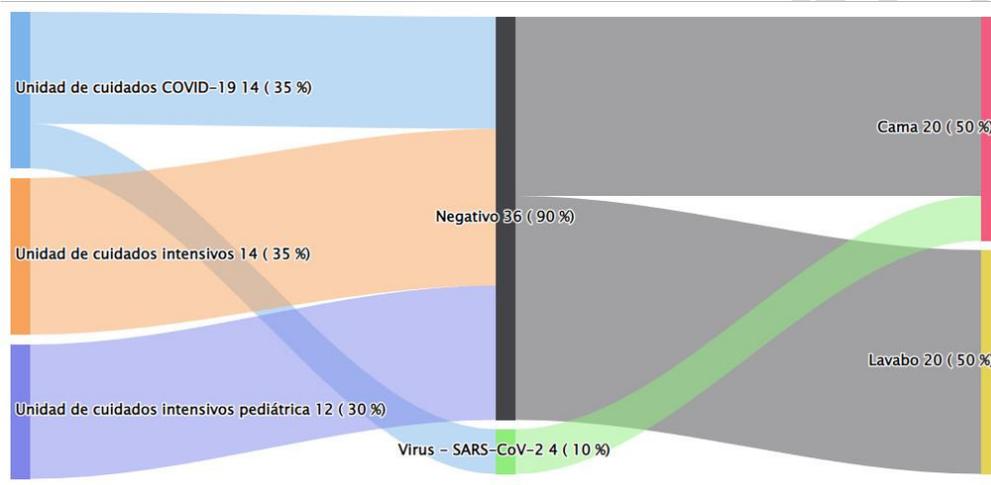


Figura 1. Distribución de muestras positivas para SARS-CoV-2 en ambientes hospitalarios. Diagrama de Sankey de la distribución de muestras negativas y positivas para SARS-CoV-2 en un hospital de Sinaloa de noviembre de 2021 a marzo de 2022. Las áreas muestreadas fueron la unidad de cuidados COVID-19, unidad de cuidados intensivos y unidad de cuidados intensivos pediátricos.

Los resultados de este estudio sobre la presencia de SARS-CoV-2 en camas son consistentes con estudios previos como el de Lane *et al.* (2021b), quienes detectaron la presencia de SARS-CoV-2 en 19 de 576 muestras, particularmente en el área de la cama, como las áreas de la cabeza y los pies de la cama. Asimismo, Pasquarella *et al.* (2020) demostraron la presencia de SARS-CoV-2 en superficies hospitalarias y encontraron un 26,6 % de muestras positivas (4/15) en pasamanos de cama, botones de emergencia, pasamanos y estetoscopios.

La presencia del virus SARS-CoV-2 en las camas es un problema alarmante, ya que los resultados previos sugieren que las partículas del virus pueden sobrevivir en superficies no porosas como el acero. En nuestro estudio, los pasamanos de la cama estaban hechos de acero inoxidable. En este contexto, algunos estudios informaron la presencia de partículas viables de SARS-CoV-2 en superficies no porosas de 3,5 a 5,6 horas (Bonil *et al.*, 2021). Sin embargo, otros estudios sugieren que las

partículas virales pueden sobrevivir hasta 72 horas (van Doremalen *et al.*, 2020); tales diferencias en la supervivencia pueden atribuirse a la carga viral en cada estudio. En este contexto, y con base en la frecuencia de muestreo en este estudio, basados en nuestros resultados, se puede sugerir que las partículas virales podrían ser detectables al menos durante 14 días. En este sentido, y con base en los resultados para la agrupación de clados, sustentan la idea de que las secuencias circundantes comparten una estrecha relación a nivel filogenético, independientemente del tiempo y la fuente de aislamiento (Figura 2).

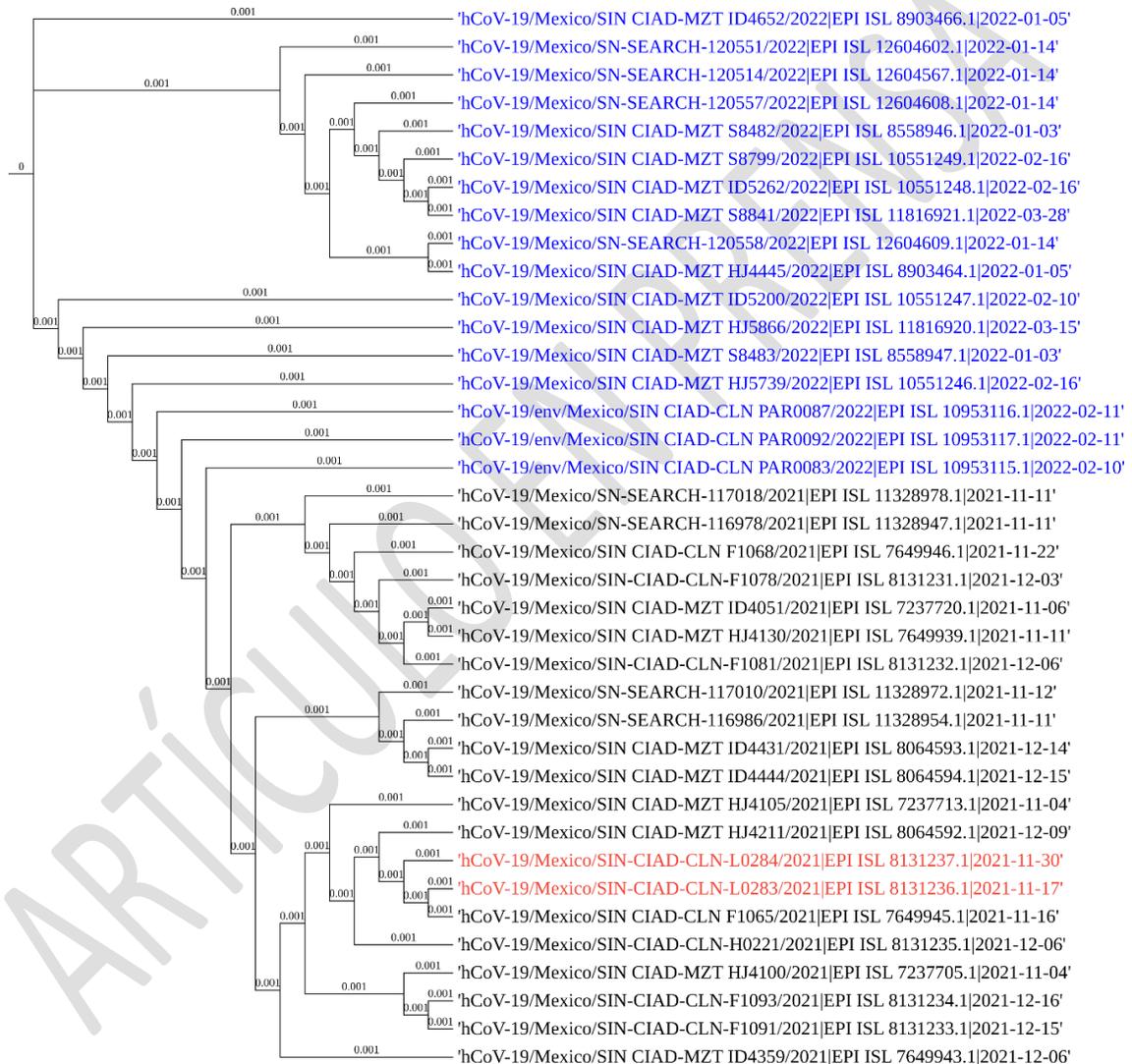


Figura 2. Árbol filogenético de secuencias representativas del SARS-CoV-2 de Sinaloa de noviembre de 2021 a marzo de 2022. Se recolectaron secuencias representativas de las principales ciudades de Sinaloa durante la duración de este trabajo del 1 de noviembre de 2021 al 31 de marzo de 2022. Se realizó un alineamiento múltiple utilizando el algoritmo MAFFT versión 7 (<https://mafft.cbrc.jp>), y el árbol filogenético se construyó utilizando FastTree (<http://www.microbesonline.org/fasttree/>) con opciones predeterminadas. Los marcadores azules son secuencias de muestras de 2022, los marcadores negros son secuencias de muestras de 2021 y los marcadores rojos son secuencias de este estudio.

Coincidentemente, los genomas de las muestras positivas detectadas durante las muestras 1 y 2 en noviembre de 2021 pertenecían a la variante Delta. Los resultados de las variantes del SARS-CoV-2 en este estudio son consistentes con los datos del Consorcio Nacional de Vigilancia Genómica (Co-Vi-Gen-Mex) en México, ya que, de septiembre a noviembre de 2021, el 99 % de los genomas reportados pertenecen a la variante Delta.

Detección de bacterias en muestras de superficie

Del total de muestras analizadas, el 82,5 % mostró presencia de bacterias Gram positivas, mientras que el 37,5 % presentó presencia de bacterias Gram negativas. Entre las áreas analizadas, la unidad de atención de COVID-19 fue la más contaminada durante el período de estudio, incluidos el lavabo y la barandilla de la cama (Figura 3).

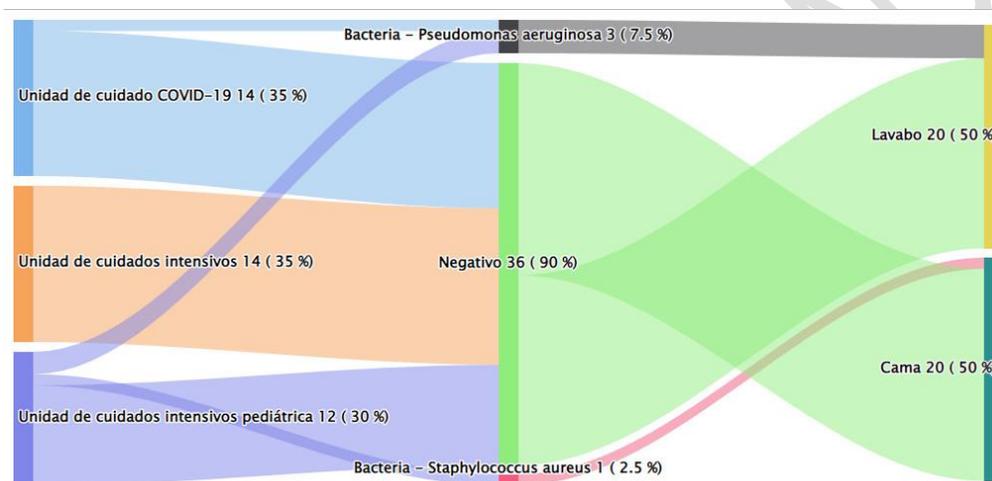


Figura 3. Presencia y distribución de bacterias nosocomiales en superficies hospitalarias. Gráfica de Sankey de la distribución de muestras negativas y positivas para *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* en un hospital de Sinaloa de noviembre de 2021 a marzo de 2022. Las áreas muestreadas fueron la unidad de cuidados COVID-19, la unidad de cuidados intensivos y la unidad de cuidados intensivos pediátricos.

Pseudomonas aeruginosa

Los aislamientos bacterianos fueron sometidos a confirmación por PCR, la cual reveló la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en tres muestras de superficie, detectada en el primer y tercer muestreo en la unidad de cuidados intensivos pediátricos y la unidad de cuidados COVID-19 en el lavamanos, con valores de hasta 1.3×10^3 CFU. La unidad de cuidados COVID-19 mostró la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en una muestra del lavamanos con una concentración de 270 CFU. De acuerdo con nuestros resultados, *Pseudomonas aeruginosa* estuvo presente en el 7,5% de las muestras, principalmente aislada de muestras de lavamanos (Figura 3). Nuestros resultados son consistentes con estudios previos como el de Olson *et al.*, (1984), quien reportó que todos los lavamanos y alcantarillas del hospital fueron positivos para *Pseudomonas aeruginosa*, con las mismas cepas detectadas en los pacientes, sugiriendo la posible transmisión de infecciones nosocomiales a través de contaminación cruzada. Es fundamental considerar que la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en este ambiente puede verse favorecida por

su capacidad de supervivencia, la cual se reporta que puede sobrevivir en superficies inanimadas entre 6 horas y 16 meses. Esta capacidad de supervivencia a largo plazo podría contribuir a que *Pseudomonas aeruginosa* sea uno de los principales agentes causales de neumonía nosocomial (Castañeda & Ordoñez, 2015; Paz *et al.*, 2019).

Acinetobacter baumannii

La confirmación por PCR de los aislamientos bacterianos reveló la ausencia de *Acinetobacter baumannii* en todas las muestras de superficie, incluidas la unidad de cuidados intensivos, unidad de cuidados intensivos pediátricos y unidad de cuidados COVID-19. Los resultados de nuestro estudio son consistentes con estudios previos, como los de D'Agata *et al.* (2000), quienes documentaron la ausencia de *Acinetobacter baumannii* en muestras ambientales de hospitales, independientemente de la aparición de brotes infecciosos. Sin embargo, algunos estudios difieren de nuestros resultados. Ahmed *et al.* (2019) reportaron la presencia de *Acinetobacter baumannii* en solo el 1.8% de las muestras analizadas, lo que sugiere una baja incidencia de este microorganismo en hospitales de Egipto; Doscoph *et al.* (2019) reportaron la presencia de *Acinetobacter baumannii*, que representó el 46.7 % de las bacterias Gram negativas aisladas en este estudio. Christoff *et al.* (2020) detectaron la presencia de *Acinetobacter baumannii* en el 7.39 % de 1,978 muestras en un hospital en Brasil. Estudios previos en México han reportado la presencia de *Acinetobacter baumannii* en el 8.7 % de las muestras de superficie de camas, mesas y equipo médico de dos unidades de cuidados intermedios en un hospital en Guadalajara, México (Arias-Flores *et al.*, 2016). La ausencia de *Acinetobacter baumannii* en este estudio puede deberse al uso adecuado de desinfectantes en entornos de atención médica, lo que puede ayudar a reducir la abundancia de este microorganismo en dichos entornos (Betchen *et al.*, 2022).

Staphylococcus aureus

Se confirmó la presencia de *Staphylococcus aureus* en una muestra de barandal de cama de la unidad de cuidados intensivos pediátricos, que tenía una concentración de 40 CFU por superficie de muestra (Figura 3). Esto puede considerarse una baja incidencia de *Staphylococcus aureus* (2,5 %) en dichos ambientes, lo que difiere de estudios previos que informaron incidencias de hasta el 25 % de muestras de superficie positivas (Ahmed *et al.*, 2019; Doscoph *et al.*, 2019). Los resultados de nuestro estudio difieren de las estadísticas de *Staphylococcus aureus* en hospitales, que, según la literatura, varían entre un 12 y un 16 % en muestras clínicas de EE. UU., mientras que los datos de México varían en un 9,8 % (Sievert *et al.*, 2012; Weiner *et al.*, 2016; Arias *et al.*, 2016). La importancia de detectar *Staphylococcus aureus* en el ambiente hospitalario se debe a sus propiedades oportunistas y ubicuas, es decir, la capacidad de sobrevivir en superficies inanimadas entre 7 días y 7 meses (Castañeda & Ordoñez, 2015). Otro problema crítico es la resistencia a los antimicrobianos, que puede complicar la selección de antibióticos apropiados y efectivos y tener un impacto negativo en la salud de las personas infectadas. La baja incidencia y tasa de contaminación del aire del ambiente y las superficies hospitalarias se puede atribuir a las buenas prácticas de limpieza y desinfección por parte del personal hospitalario, que puede desarrollar medidas adecuadas en función de las prácticas de limpieza y desinfección prescritas, así como al papel en el uso de soluciones desinfectantes para prevenir la aparición de microorganismos resistentes.

En este sentido, estudios previos reportan que la incidencia y distribución de agentes causantes de infecciones nosocomiales como *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae* era mayor antes del evento pandémico, al contrario de durante el evento pandémico en diferentes departamentos del hospital (Su *et al.*, 2021; Huang *et al.*, 2023). Esto sugiere crear un entorno seguro para los pacientes y minimizar la probabilidad de infección nosocomial durante su hospitalización.

Conclusiones

Los resultados de este estudio sugieren que la época de pandemia ha tenido un impacto positivo en las prácticas de limpieza y desinfección en el ámbito sanitario, como lo demuestra la baja presencia de bacterias con relevancia nosocomial significativa. También sugiere que la duración de la residencia del SARS-CoV-2 en el aire es limitada, por lo que, si bien la transmisión aérea por esta vía puede no ser la principal vía de propagación del SARS-CoV-2 en ambientes sanitarios, su presencia prolongada en superficies inanimadas representa un riesgo potencial para el personal hospitalario y los pacientes, que, además de la contaminación bacteriana, puede aumentar la probabilidad de aparición de infecciones nosocomiales. Sin embargo, reforzar las prácticas de limpieza y desinfección obligatorias puede reducir aún más la presencia y el riesgo de propagación de patógenos bacterianos y virales.

Contribución de los autores

José Andrés Medrano-Félix. - Conceptualización y redacción del borrador original, análisis formal y figuras. Juan Daniel Lira-Morales. - Metodología, análisis formal y figuras. Valeria Lizbeth Gurrola-López. - Metodología y análisis formal. Célida Isabel Martínez-Rodríguez. Cristóbal. - Supervisión, redacción y edición. Nohelia Castro-del Campo. - Supervisión, redacción y edición.

Financiamiento

Esta investigación fue financiada por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías, con los apoyos número 313522 y 321179.

Declaraciones éticas

No aplica.

Declaración de consentimiento informado

No aplica.

Agradecimientos

Los autores agradecen a todos los contribuyentes de datos, por ejemplo, a los autores y laboratorios responsables de la obtención de especímenes, así como laboratorios remitentes por generar las secuencias genéticas y los metadatos y compartirlos a través de la iniciativa GISAID, en la que se basa la presente investigación.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés

Referencias

- Ahmed, E. H., Hassan, H. A. M., El-Sherbiny, N. M., & Soliman, A. M. (2019). Bacteriological monitoring of inanimate surfaces and equipment in some referral hospitals in Assiut City, Egypt. *International journal of Microbiology*, 2019(1), 5907507. <https://doi.org/10.1155/2019/5907507>
- Aiesh, B. M., Qashou, R., Shemmessian, G., Swaileh, M. W., Abutaha, S. A., Sabateen, A., Barqawi, A.K., & Zyoud, S. E. H. (2023). Nosocomial infections in the surgical intensive care unit: an observational retrospective study from a large tertiary hospital in Palestine. *BMC Infectious Diseases*, 23(1), 686. <https://doi.org/10.1186/s12879-023-08677-z>
- Arias-Flores, R., Rosado-Quiab, U., Vargas-Valerio, A., & Grajales-Muñiz, C. (2016). Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales en el Instituto Mexicano del Seguro Social. *Revista Médica del instituto mexicano del seguro social*, 54(1), 20-24.
- Bardi, T., Pintado, V., Gomez-Rojo, M., Escudero-Sanchez, R., Azzam Lopez, A., Diez-Remesal, Y., Martinez-Castro, N., Ruiz-Garbajosa, P., & Pestaña, D. (2021). Nosocomial infections associated to COVID-19 in the intensive care unit: clinical characteristics and outcome. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 40, 495-502. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-04142-w>
- Betchen, M., Giovinco, H. M., Curry, M., Luu, J., Fraimow, H., Carabetta, V. J., & Nahra, R. (2022). Evaluating the effectiveness of hospital antiseptics on multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: Understanding the relationship between microbicide and antibiotic resistance. *Antibiotics*, 11(5), 614. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050614>
- Bonil, L., Lingas, G., Coupeau, D., Lucet, J. C., Guedj, J., Visseaux, B., & Muylkens, B. (2021). Survival of SARS-CoV-2 on non-porous materials in an experimental setting representative of fomites. *Coatings*, 11(4), 371. <https://doi.org/10.3390/coatings11040371>
- Castañeda-Martínez, F. C., & Valdespino-Padilla, M. G. (2015). Prevalencia de infecciones nosocomiales en un hospital de segundo nivel de atención en México. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 53(6), 686-690.
- Cheng, K., He, M., Shu, Q., Wu, M., Chen, C., & Xue, Y. (2020). Analysis of the risk factors for nosocomial bacterial infection in patients with COVID-19 in a tertiary hospital. *Risk Management and Healthcare Policy*, 2593-2599. <http://doi.org/10.2147/RMHP.S277963>
- Chiang, M. C., Kuo, S. C., Chen, Y. C., Lee, Y. T., Chen, T. L., & Fung, C. P. (2011). Polymerase chain reaction assay for the detection of *Acinetobacter baumannii* in

endotracheal aspirates from patients in the intensive care unit. *Journal of microbiology, immunology and infection*, 44(2), 106-110. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2010.04.003>

Choi, H. J., Kim, M. H., Cho, M. S., Kim, B. K., Kim, J. Y., Kim, C., & Park, D. S. (2013). Improved PCR for identification of *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied microbiology and biotechnology*, 97, 3643-3651. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-4709-0>

Christoff, A. P., Sereia, A. F. R., Cruz, G. N. F., Bastiani, D. C. D., Silva, V. L., Hernandez, C., Metran, N., dos Reis, A., Viessi, R., Gatti de Menezes, F., & Oliveira, L. F. V. D. (2020). One year cross-sectional study in adult and neonatal intensive care units reveals the bacterial and antimicrobial resistance genes profiles in patients and hospital surfaces. *PLoS One*, 15(6), e0234127. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234127>

Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. (2023). COVID Data Tracker, <https://covid.cdc.gov/covid-data-tracker/#new-hospital-admissions>, accession date, January 25th, 2023.

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología [CONACYT]. (2023). COVID-19 México. <https://datos.covid-19.conacyt.mx> .accession date, January 25th, 2023.

D'Agata, E. M., Thayer, V., & Schaffner, W. (2000). An outbreak of *Acinetobacter baumannii*: the importance of cross-transmission. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 21(9), 588-591. <https://doi.org/10.1086/501808>

de Sousa, N., Steponavičiute, L., Margerie, L., Nissen, K., Kjellin, M., Reinius, B., Salaneck, E., Udekwu, I., & Rothfuchs, A. G. (2022). Detection and isolation of airborne SARS-CoV-2 in a hospital setting. *Indoor Air*, 32(3), e13023. <https://doi.org/10.1111/ina.13023>

Doscoph, F., Agbankpe, A. J., Johnson, R. C., Hounbégnon, O., Houssou, S. C., & Bankole, H. S. (2019). Healthcare-associated infections: bacteriological characterization of the hospital surfaces in the University Hospital of Abomey-Calavi/so-ava in South Benin (West Africa). *BMC Infectious Diseases*, 19, 1-7. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3648-x>

Du, Q., Zhang, D., Hu, W., Li, X., Xia, Q., Wen, T., & Jia, H. (2021). Nosocomial infection of COVID-19: A new challenge for healthcare professionals. *International journal of molecular medicine*, 47(4), 31.

Esfahani, B. N., Basiri, R., Mirhosseini, S. M. M., Moghim, S., & Dolatkhah, S. (2017). Nosocomial infections in intensive care unit: pattern of antibiotic-resistance in Iranian community. *Advanced biomedical research*, 6(1), 54. <http://doi.org/10.4103/2277-9175.205527>

Hamdan-Partida, A., González-García, S., & Bustos-Martínez, J. (2015). Identificación de *Staphylococcus aureus* utilizando como marcadores los genes *nucA* y *femB*. *Ciencias Clínicas*, 16(2), 37-41. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cc.2016.02.002>

Huang, H., Wu, K., Chen, H., Wang, J., Chen, L., Lai, Z., & Lin, S. (2023). The impact of the COVID-19 pandemic on nosocomial infections: a retrospective analysis in a tertiary maternal and child healthcare hospital. *Frontiers in Public Health*, 11, 1132323.

International Standard. ISO 4833-2: 2013. Microbiology of food chain. Horizontal method for the enumeration of microorganisms. Part 2: Colony count at 30°C by the surface plating technique.

Landoas, A., Cazzorla, F., Gallouche, M., Larrat, S., Nemoz, B., Giner, C., Le Maréchal, M., Pavese, P., Epaulard, O., Morand, P., Mallaret, M.R., & Landelle, C. (2021). SARS-CoV-2 nosocomial infection acquired in a French university hospital during the 1st wave of the Covid-19 pandemic, a prospective study. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 10, 1-8. <https://doi.org/10.1186/s13756-021-00984-x>

Lane, M. A., Brownsword, E. A., Babiker, A., Ingersoll, J. M., Waggoner, J., Ayers, M., Klopman, M., Ukey, T.M., Lindsley, W. G., & Kraft, C. S. (2021a). Bioaerosol sampling for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in a referral center with critically ill coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients March–May 2020. *Clinical Infectious Diseases*, 73(7), e1790-e1794. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1880>

Lane, M. A., Walawender, M., Webster, A. S., Brownsword, E. A., Ingersoll, J. M., Miller, C., Waggoner, J., Uyeki, T.M., Lindsley, W.G., & Kraft, C. S. (2021b). Sampling for SARS-CoV-2 aerosols in hospital patient rooms. *Viruses*, 13(12), 2347. <https://doi.org/10.3390/v13122347>

Linde, K. J., Wouters, I. M., Kluytmans, J. A., Kluytmans-van den Bergh, M. F., Pas, S. D., Geurtsvan-Kessel, C. H., Koopmans, M.P.G., Meier, M., Meijer, P., Raben, C.R. Spithoven, J., Tersteeg-Ziderveld, M.H.G., Heederik, J.J., Dohmen, W., & COCON consortium. (2023). Detection of SARS-CoV-2 in air and on surfaces in rooms of infected nursing home residents. *Annals of work exposures and health*, 67(1), 129-140. <https://doi.org/10.1093/annweh/wxac056>

Mohammadnejad, E., Manshadi, S. A. D., Mohammadi, M. T. B., Abdollahi, A., Seifi, A., Salehi, M. R., & Gheshlagh, R. G. (2021). Prevalence of nosocomial infections in Covid-19 patients admitted to the intensive care unit of Imam Khomeini complex hospital in Tehran. *Iranian journal of microbiology*, 13(6), 764. <https://doi.org/10.18502/ijm.v13i6.8075>

Moharir, S.C., Thota, S.C., Goel, A., Thakur, B., Tandel, D., Reddy, S.M., Vodapalli, A., Balla, G.S., Kumar, D., Naruka, D.S., Kumar, A., Tuli, A., Suravaram, S., Bingi, T.C., Srinivas, M., Mesipogu, R., Reddy, K., Khosla, S., Harshan, K.H., Tallapaka, K.B., & Mishra, R.K. (2022). Detection of SARS-CoV-2 in the air in Indian hospitals and houses of COVID-19 patients. *Journal of Aerosol Science*, 164, 106002. <https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2022.106002>

Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios, Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.

- Olson, B., Weinstein, R.A., Nathan, C., Chamberlin, W., & Kabins, S.A. (1984). Epidemiology of endemic *Pseudomonas aeruginosa*: Why infection control efforts have failed. *The journal of infectious diseases* 150(6), 808-816, <https://doi.org/10.1093/infdis/150.6.808>
- Ong, C.C., Farhanah, S., Linn, K.Z., Tang, Y.W., Poon, C.Y., Lim, A.Y., Tan, H.R., Binte Hamed, N.H., Huan, X., Puah, S.H., Ho, B.C.H., Soon, M.M., Ang, B.S., Vasoo, S., Chan, M., Leo, Y.S., Ng, O.T., & Marimuthu, K. (2021). Nosocomial infections among COVID-19 patients: an intensive care unit surveillance data analysis. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 10,119. <https://doi.org/10.1186/s13756-021-00988-7>
- Pasquarella, C., Colucci, M.E., Bizzarro, A., Veronesi, L., Affanni, P., Meschi, T., Brianti, P., & Albertini, R. (2020). Detection of SARS-CoV-2 on hospital surfaces. *Acta Biomedica*, 9,67-78. <http://doi.org/10.23750/abm.v91i9-S.10137>.
- Rhoden, J., Prestes, D., Pertile, F., Wottrich, J., & Matter, L.B. (2021). Prevalence of nosocomial infection microorganisms and the presence of antimicrobial multi-resistance. *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção*, 11(2),91-96, <https://doi.org/10.17058/reci.v11i2.15187>
- Sievert, D.M., Ricks, P., Edwards, J.R., Schneider, A., Patel, J., Srinivasan, A., Kallen A., Limbago, B., & Fridkin, S. (2013). Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010. *Infection control and Hospital Epidemiology*, 34(1), 1-14,
- Su, C., Zhang, Z., Peng, H., Hong, Y., Huang, L., Yan, X., Wu, S., & Bai, Z. (2021). Changes in prevalence of nosocomial infection pre- and post-COVID-19 pandemic from a tertiary hospital in China. *BMC Infectious Diseases*, 21,693, <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06396-x>
- Tarigan, G.E., Nawan, & Toemon, A.I. (2023). Identification and resistance testing bacteria causing nosocomial infections in surgery inpatient rooms. *Disease Prevention and Public Health Journal*, 17(1),100-108. <https://doi.org/10.12928/dpphj.v17i1.6875>
- van Doremalen, N., Bushmaker, T., Morris, D. H., Holbrook, M. G., Gamble, A., Williamson, B. N., Tamin, A., Harcourt, J. L., Thornburg, N. J., Gerber, S. I., Lloyd-Smith, J. O., de Wit, E., & Munster, V. J. (2020). Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *The New England journal of medicine*, 382(16), 1564–1567. <http://doi.org/10.1056/NEJMc2004973>
- Weiner, L.M., Webb, A.K., Limbago, B., Dudeck, M.A., Patel, J., Kallen, A.J., Edwards, J.R., & Sievert, D.M. (2016). Antimicrobial-Resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011-2014. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 37(11):1288-1301, <http://doi.org/10.1017/ice.2016.174>

World Health Organization [WHO]. (2022). WHO Coronavirus (COVID-19) dashboard. <https://covid19.who.int>. Accession date, January 25th 2023.

Ye, G., Lin, H., Chen, S., Wang, S., Zeng, Z., Wang, W., Zhang, S., Rebmann, T., Li, Y., Pan, Z., Yang, Z., Wang, Y., Wang, F., Qian, Z., & Wang, X. (2020). Environmental contamination of SARS-CoV-2 in healthcare premises. *The Journal of infection*, 81(2), e1–e5. <http://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.034>

Zhou, Q., Gao, Y., Wang, X., Liu, R., Du, P., Wang, X., Zhang, X., Lu, S., Wang, Z., Shi, Q., Li, W., Ma, Y., Luo, X., Fukuoka, T., Ahn, H.S., Lee, M.S., Liu, E., Chen, Y., Luo, Z., & Yang, K., on behalf of COVID-19 evidence and recommendations working group. (2020). Nosocomial infections among patients with COVID-19, SARS and MERS: a rapid review and meta-analysis. *Annals of Translational Medicine*, 8 (10),629. <http://dx.doi.org/10.21037/atm-20-3324>

ARTÍCULO EN PRENSA