



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Unidad de Posgrado

**Detección de Carbapenemasas tipo *bla*NDM en
Klebsiella pneumoniae aisladas en muestras de
hisopados rectales en un hospital nacional, nivel IV.
Lima, Perú**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Microbiología

AUTOR

Margarita Victoria LOVERA GARCIA

ASESOR

Dra. Mirtha ROQUE ALCARRAZ

Lima, Perú

2022



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Lovera M. Detección de Carbapenemasas tipo blaNDM en *Klebsiella pneumoniae* aisladas en muestras de hisopados rectales en un hospital nacional, nivel IV. Lima, Perú [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado; 2022.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Margarita Victoria Lovera Garcia
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	21571096
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-0483-5756
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Mirtha Roque Alcarraz
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	08644654
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-9154-5767
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	María Elena Salazar Salvatierra
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	08675623
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Yovani Martín Condorhuamán Figueroa
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	09597625
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Julio Reynaldo Ruiz Quiroz
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	07760326
Datos de investigación	
Línea de investigación	No aplica.

Grupo de investigación	No aplica.
Agencia de financiamiento	No aplica.
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM, Jirón Huanta 1182, Cercado de Lima 15001. País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Lima Calle: Jr. Puno N°1002 - Lima Latitud: -12.0561371 Longitud: -77.0233785
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2019-2020
URL de disciplinas OCDE	Farmacología, Farmacia https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.05



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Unidad de Posgrado



**ACTA DE SUSTENTACIÓN VIRTUAL DE TESIS PARA OPTAR
AL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN MICROBIOLOGÍA**

Siendo las **15:00 hrs. del 05 de setiembre de 2022** se reunieron mediante la plataforma de Google meet de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado Evaluador de tesis, presidido por la Dra. María Elena Salazar Salvatierra e integrado por los siguientes miembros: Dra. Mirtha Roque Alcarraz (Asesora), Dr. Yovani Martín Condorhuamán Figueroa y Mg. Julio Reynaldo Ruiz Quiroz; para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: **“Detección de Carbapenemasas tipo blaNDM en *Klebsiella pneumoniae* aisladas en muestras de hisopados rectales en un Hospital Nacional, nivel IV. Lima, Perú”**, presentado por la Bachiller en Tecnología Médica **Margarita Victoria Lovera García**.

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Magíster en Microbiología**. Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por el graduando.

A continuación, el Jurado Evaluador de tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

DIECISIETE (17) MUY BUENO

Luego, la Presidenta del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue a la Bachiller en Tecnología Médica **Margarita Victoria Lovera García**, el Grado Académico de Magister en **Microbiología**.

Siendo las: **4:14** hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las **4:15** hrs. del 05 de setiembre de 2022.

.....
Dra. María Elena Salazar Salvatierra (P.P., T.C.)
Presidenta

.....
Dra. Mirtha Roque Alcarraz (P. P, D.E)
Miembro - Asesor

.....
Dr. Yovani Martín Condorhuamán Figueroa (P. Asoc. T.P.)
Miembro

.....
Mg. Julio Reynaldo Ruiz Quiroz (P. Asoc, T.C.)
Miembro

Observaciones:
.....
.....



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Unidad de Posgrado



LA DIRECTORA DE LA UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS QUE SUSCRIBE DEJA,

CONSTANCIA

00025-FFB-UPG-2022

Que, mediante procedimiento de la evaluación de originalidad según Resolución Rectoral N° 043005-R-18, de la tesis intitulada: **Detección de Carbapenemasas tipo blaNDM en *Klebsiella pneumoniae* aisladas en muestras de hisopados rectales en un Hospital Nacional, nivel IV. Lima, Perú**, presentado por **Margarita Victoria Lovera Garcia**, con fecha de recepción 16/03/2022, con fecha de aplicación al programa de similitud el 27/03/2022 con el software utilizado el TURNITIN, con la configuración de exclusión de textos entrecomillas, bibliografías y cadenas menores a 40 palabras, mediante el procedimiento de la evaluación de originalidad, el porcentaje de similitud según programa detector es **7%**, por lo que, cumple los criterios de originalidad sin observación, según informe adjunto.

Se expide la presente constancia para el trámite de expedito, según lo establecido en el Reglamento General de Estudios de Posgrado 2018, aprobado con RR. 04790-R-18.

Lima, 28 de marzo de 2022



Firmado digitalmente por RAMOS
CEVALLOS Norma Julia FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 30.03.2022 09:48:19 -05:00

DRA. NORMA JULIA RAMOS CEVALLOS
DIRECTORA

NJRC/ecj

DEDICATORIA

A Dios por darme su amor y la fortaleza para seguir avanzando y no soltar mi mano
venciendo obstáculos que son parte de la vida.

A mi hermosa familia, a mis padres Margarita y José por apoyarme siempre con amor y
enseñarme a luchar.

A mi hermano José Alberto por su cariño y consejos.

A mi hija Yadhira mi motor y motivo.

A David por su paciencia y apoyo incondicional.

A mis abuelitos Dina y Eugenio por cuidarme desde el cielo.

Margarita Victoria Lovera Garcia

AGRADECIMIENTOS

Gracias Dios por la vida y a la vida misma por las enseñanzas del día a día.

A mi asesora Dra. Mirtha Roque Alcarraz por brindarme sus conocimientos, motivación y su preciado tiempo.

A mis colegas y amigos Lic. T.M. Miriam García Lucich y Lic. T.M. Carlos Romero Valverde por su amistad y apoyo en este estudio.

A los distinguidos miembros del jurado: Dra. María Elena Salazar Salvatierra, Dr. Julio Reynaldo Ruiz Quiroz, Dr. Yovani Martín Condorhuamán Figueroa por sus valiosos comentarios y sugerencias para la culminación de la presente tesis.

Margarita Victoria Lovera Garcia

ÍNDICE

RESUMEN	xi
ABSTRACT.....	xii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 HIPÓTESIS Y VARIABLES	2
1.1.1 Hipótesis general.....	2
1.1.2 Identificación de variables	2
1.2 OBJETIVOS.....	3
1.2.1 Objetivo General	3
1.2.2 Objetivos Específicos.....	3
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1 Antecedentes de la investigación.....	4
2.1.1 Antecedentes Internacionales excepto Latinoamérica	4
2.1.2 Antecedentes en Latinoamérica.....	6
2.2 Aspectos teóricos	8
2.2.1 Género <i>Klebsiella</i>	10
2.2.1.1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	11
2.2.2 Importancia clínica	11
2.2.3 Factores de virulencia.....	12
2.2.3.1 Cápsula.....	12
2.2.3.2 Lipopolisacáridos (LPS)	13
2.2.3.3 Fimbrias	13
2.2.3.4 Sideróforos	14
2.2.3.5 Biopelículas	14
2.2.4 Agentes antimicrobianos	14
2.2.4.1 Betalactámicos	15
2.2.4.1.1 Carbapenémicos	15
2.2.5 Resistencia antimicrobiana	16
2.2.6 Mecanismos de resistencia a antibióticos Carbapenémicos.....	17
2.2.6.1 Sistema de bombas de eflujo	17
2.2.6.2 Porinas de membrana	17
2.2.6.3 Betalactamasas	18

2.2.6.3.1	Carbapenemasas Metalobetalactamasas	19
2.2.6.3.1.1	New Delhi Metalobetalactamasa (NDM).....	19
III.	METODOLOGÍA	21
3.1	Tipo de estudio.....	21
3.2	Diseño metodológico.....	21
3.3	Unidad de análisis	21
3.4	Población de estudio.....	21
3.5	Muestra o tamaño de muestra	21
3.6	Criterios de selección	21
3.6.1	Criterios de inclusión	21
3.6.2	Criterios de exclusión	21
3.7	Técnicas o instrumentos de recolección de la información o de datos	22
3.7.1	Aislamientos bacterianos	22
3.7.2	Sensibilidad antimicrobiana	22
3.7.3	Conservación de las cepas.....	22
3.7.4	Activación de cepas.....	22
3.7.5	Identificación bioquímica	23
3.7.6	Confirmación fenotípica de enterobacterias productoras de carbapenemasas - metalobetalactamasas.....	24
3.7.6.1	Método modificado de inactivación del carbapenémico (mCIM)	24
3.7.6.2	Detección fenotípica de Metalobetalactamasas (MBLs) con el test de sinergia de doble disco con EDTA	24
3.7.7	Detección genotípica	25
IV.	RESULTADOS	28
4.1	Perfil de sensibilidad antimicrobiana y características epidemiológicas de las cepas en estudio de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	28
4.2	Identificación bioquímica	31
4.3	Detección fenotípica de carbapenemasas - metalobetalactamasas	33
4.4	Detección genotípica de <i>bla</i> NMD	35
V.	DISCUSIÓN	37
VI.	CONCLUSIONES	40
VII.	RECOMENDACIONES	41
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
IX.	ANEXOS	49

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Características fenotípicas de las subespecies de <i>K. pneumoniae</i>	11
Tabla 2. Comparando los sistemas de nomenclatura.	19
Tabla 3. Interpretación de resultados de mCIM.....	24
Tabla 4. Amplificación de genes que codifican para <i>bla</i> NDM	25
Tabla 5. Formulación para amplificación en PCR del gen <i>bla</i> NDM.....	26
Tabla 6. Parámetros para la amplificación del gen <i>bla</i> NDM.....	26

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de la localización celular de NDM-1, anclada mediante su grupo lipídico a la cara periplasmática de la membrana externa.	20
Figura 2. Cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	23
Figura 3. Corrida electroforética en gel de agarosa.....	27
Figura 4. Resultados del Perfil de sensibilidad antimicrobiana de las cepas en estudio de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aisladas de hisopados rectales.	28
Figura 5. Presencia de carbapenemasas tipo <i>bla</i> NDM en cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aisladas de hisopados rectales según servicio de hospitalización.	30
Figura 6. Presencia de carbapenemasas tipo <i>bla</i> NDM en cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aisladas de hisopados rectales según edad.	30
Figura 7. Presencia de carbapenemasas tipo <i>bla</i> NDM en cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aisladas de hisopados rectales según sexo.....	31
Figura 8. Cepa en estudio de <i>Klebsiella pneumoniae</i> en agar MacConkey.....	32
Figura 9. Identificación Bioquímica de cepa en estudio <i>Klebsiella pneumoniae</i>	32
Figura 10. Método modificado de inactivación del carbapenémico (mCIM) con resultado positivo.	33
Figura 11. Método modificado de inactivación del carbapenémico (mCIM).....	34
Figura 12. Sinergia de doble disco con el inhibidor EDTA.	35
Figura 13. Electroforesis de muestras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> en estudio.....	36

SIGLAS, ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

APB: Ácido fenil borónico

ATCC: American Type Culture Collection

BLEE: Beta-lactamasa de espectro extendido

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CTS: Caldo tripticasa soya

DIGEMID: Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas

dNTP's: Deoxynucleotidos trifosfato

EDTA: Etilendiamino tetraacético

ESKAPE: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*,
Acinetobacter baumannii, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter spp.*

H₂S: Sulfuro de Hidrógeno

KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa

LIA: Lysine Iron Agar

LPS: Lipopolisacáridos

MBL: Metalobetalactamasa

mCIM: modified carbapenem inactivation method

MgCl₂: Cloruro de magnesio

MHA: Mueller Hinton Agar

MHT: Modified Hodge Test

MINSA: Ministerio de Salud

NDM: New Delhi Metalobetalactamasa

OMPs: Outer membrane proteins

OMS: Organización Mundial de la Salud

OPS: Organización Panamericana de la Salud

PBP: Penicillin-binding proteins

PCR: Polymerase chain reaction

PMN: Polimorfonucleares

SBLs: Serin-beta-lactamasas

SIM: Sulfide Indole Motility

TSA: Trypto-Casein Soy Agar

TSI: Triple Sugar Iron

VIM: Verona integron encoded metallobeta-lactamase

RESUMEN

Objetivo: Detectar la presencia de carbapenemasas NDM en cepas de *Klebsiella pneumoniae* aisladas de hisopados rectales. **Metodología:** El presente estudio es de tipo observacional, descriptivo, de corte transversal; se recolectaron 51 cepas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a carbapenémicos entre los meses de marzo a mayo de 2018, aisladas de muestras de hisopados rectales, provenientes de un Hospital Nacional, nivel IV. Lima, Perú. Los métodos fenotípicos utilizados fueron Método modificado de inactivación del carbapenémico (mCIM) para detección de enterobacterias productoras de carbapenemasas y Test de sinergia de doble disco con EDTA para la detección fenotípica de metalobetalactamasas clase B. La detección genotípica se realizó mediante la técnica de PCR convencional. **Resultados:** El análisis fenotípico evidenció que el 98% de cepas fueron productoras de carbapenemasas y positivas para metalobetalactamasas; el análisis genotípico evidenció que el 98% portaban del gen NDM. **Conclusiones:** El 98% de cepas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a carbapenémicos aisladas de hisopados rectales portaban el gen NDM.

Palabras clave: *Klebsiella pneumoniae*, metalobetalactamasas, carbapenemasas, Nueva Delhi Metalobetalactamasa (NDM).

ABSTRACT

Objective: To detect the presence of carbapenemases NDM in strains of *Klebsiella pneumoniae* isolated from rectal swabs. **Methodology:** This study is an observational, descriptive, cross-sectional type; 51 strains of *Klebsiella pneumoniae* resistant to carbapenems were collected between the months of March to May 2018, isolated from rectal swab samples, from a National Hospital, level IV.Lima, Perú. The phenotypic methods used were Modified Carbapenem Inactivation Method (mCIM) for detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and double disk synergy test with EDTA for the phenotypic detection of class B metalloβ-lactamases. Genotypic detection was performed using technique of conventional PCR. **Results:** The phenotypic analysis showed that 98% of the strains were carbapenemase producers and positive for metalloβ-lactamases; the genotypic analysis showed that 98% carried the NDM gene. **Conclusions:** 98% of *Klebsiella pneumoniae* strains resistant to carbapenems isolated from rectal swabs carried the NDM gen.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, metalloβ-lactamases, carbapenemases, New Delhi Metalloβ-lactamase (NDM).

I. INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana se está incrementando desmedidamente, lo que está ocasionando un gran problema en salud pública a nivel mundial¹. Los antibióticos de amplio espectro de actividad antibacteriana como son los carbapenémicos y que son utilizados para infecciones severas como las últimas opciones de tratamiento, están perdiendo eficacia frente a bacterias resistentes a estos antibióticos, quizás por su inadecuada utilización^{2,3}.

Klebsiella pneumoniae es una de las enterobacterias que está generando mecanismos de resistencia a carbapenémicos lo que aumenta el riesgo de morbilidad y mortalidad hospitalaria debido a la ineficacia antibiótica⁴.

Según la Dirección General de Epidemiología⁵, nos encaminamos hacia una etapa post-antibiótica, debido a que cada vez, es más complicada la terapia antibiótica de infecciones frecuentes, que durante años eran tratables y que en la actualidad pueden ser mortales. Un claro ejemplo es el surgimiento de Enterobacterias con resistencia a carbapenémicos o productoras de enzimas carbapenemasas, que al ocasionar falla terapéutica elevan el tiempo, costo de tratamiento y el incremento de riesgo de defunción.

Según el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente^{6, p.12}, "...considera que las infecciones resistentes a los antimicrobianos pueden convertirse en la principal causa de muerte en el mundo de aquí a 2050".

Tinoco⁷, refiere que *Klebsiella spp.*, es uno de los patógenos oportunistas que atacan a individuos inmunodeficientes que se encuentran hospitalizados y sufren enfermedades severas. La especie clínicamente más importante del género *Klebsiella* es *Klebsiella pneumoniae*, la cual está comúnmente asociada a diversas infecciones como en el tracto urinario, neumonía, septicemia, infecciones en heridas, en pacientes quemados, oncológicos entre otros.

Según Espinal et al.⁸, *Klebsiella pneumoniae* es un patógeno de gran importancia ya que está relacionado con infecciones hospitalarias tanto en unidades de cuidados intensivos y pacientes pediátricos, en quienes se aíslan con mayor frecuencia cepas resistentes a múltiples antibióticos, entre ellos los de amplio espectro, generando dificultad para la

terapia de infecciones ocasionadas por este microorganismo, con consecuente incremento de las tasas de morbimortalidad, estancia hospitalaria y costos de atención.

Las carbapenemasas son enzimas que pertenecen al grupo de las betalactamasas y son capaces de degradar carbapenémicos, hidrolizando prácticamente a todos los antibióticos betalactámicos. Las betalactamasas, según su naturaleza, se clasifican en: A, B, C y D; las que pertenecen a las clases A, C y D son betalactamasas con serina en su sitio activo, también denominadas serinobetalactamasas (SBLs). Las betalactamasas de clase B, son metaloenzimas dependientes de zinc, por lo que también se denominan metalobetalactamasas (MBLs) siendo la clase más variada de carbapenemasas que implica una significativa amenaza a nivel hospitalario por rápida diseminación, según la clasificación de Ambler, estas pertenecen a la clase B presentando actividad hidrolítica en los antibióticos betalactámicos (a excepción de los antibióticos monobactámicos)^{2,4,9}.

Dentro de las MBL se encuentra MBL Nueva Delhi (*bla*NDM1), una betalactamasa descrita por primera vez en el 2008 que mostró múltiple resistencia a antibióticos como penicilinas, cefalosporinas y sus derivados. Los casos iniciales evidenciaron que el mecanismo de resistencia de esta MBL, asociado a otros mecanismos de resistencia de los que disponen las bacterias gram negativas, posibilita el aumento tanto en la morbilidad como en la mortalidad debido a la infección adquirida en pacientes hospitalizados¹⁰.

1.1 HIPÓTESIS Y VARIABLES

1.1.1 Hipótesis general

No aplica por ser un estudio descriptivo observacional.

1.1.2 Identificación de variables

- Independiente: Cepas de *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenémicos.
- Dependiente: Presencia gen *bla*NDM.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo General

Detectar la presencia de Carbapenemasas tipo *bla*NDM en *Klebsiella pneumoniae* aisladas en muestras de hisopados rectales en un Hospital Nacional nivel IV. Lima, Perú.

1.2.2 Objetivos Específicos

- a) Identificar fenotípicamente y confirmar que las cepas aisladas de hisopados rectales corresponden a *Klebsiella pneumoniae*.
- b) Determinar el perfil de sensibilidad antimicrobiana de cepas de *Klebsiella pneumoniae* aisladas de hisopados rectales.
- c) Determinar genotípicamente la presencia de Carbapenemasas tipo *bla*NDM en cepas de *Klebsiella pneumoniae* aisladas de hisopados rectales resistentes a carbapenémicos, según servicio de hospitalización, edad y sexo.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

2.1.1 Antecedentes Internacionales excepto Latinoamérica

La carbapenemasa *de tipo Nueva Delhi Metalobetalactamasa* (NDM) es una carbapenemasa adquirida de clase B que confiere resistencia a todos los betalactámicos; se aisló por vez primera en el año 2008 en un paciente de 59 años en Suecia, quien desarrolló un absceso subcapsular hepático como complicación de una colecistectomía laparoscópica. Este paciente previamente fue hospitalizado en Nueva Delhi, por lo que a este tipo de carbapenemasa se le denominó NDM por su origen geográfico^{1,9,11}.

Struelens MJ et al. realizaron un estudio encuestando a 29 países europeos (Estados miembros de la Unión Europea, Islandia y Noruega) entre los años 2008 al 2010 con la finalidad de recopilar información sobre la propagación de enterobacterias productoras de NDM-1 en Europa y como resultado de este estudio reportaron la presencia de NDM en 77 casos que correspondían a 13 de los países estudiados, el 54% aislamientos correspondieron a *Klebsiella pneumoniae*¹².

Sidjabat Hanna et al. reportaron el caso de una paciente, con residencia en Australia, quien visitó Khanna, en el estado de Punjab, desde noviembre de 2009 hasta enero 2010. Durante su estadía en la India desarrolló una úlcera de pie, nunca fue hospitalizada; sin embargo, tuvo un tratamiento intravenoso con antibiótico desconocido. A su arribo a Australia fue trasladada a un hospital, donde llega con temperatura de 38,9°C, disuria, dolor suprapúbico. De un urocultivo realizado a la paciente, aislaron *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, ambos gérmenes resistentes a múltiples antibióticos, adicionalmente, *Klebsiella pneumoniae* presentó resistencia a carbapenémicos. Recibió tratamiento empírico endovenoso con ticarcilina más ácido clavulánico, los síntomas de la paciente se resolvieron a pesar de la falta de sensibilidad del tratamiento combinado, por lo que fue dada de alta. De una muestra de hisopado rectal también aislaron *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. Realizaron la detección fenotípica de metalobetalactamasa a partir de *Klebsiella pneumoniae* utilizando la inhibición de la enzima por el EDTA; para la detección genotípica utilizaron la técnica PCR para genes

de resistencia antibiótica cuyo resultado fue positivo para los genes *bla*NDM-1, *bla*CMY-6, *bla*SHV y *bla*DHA. Concluyeron que la resistencia a los antibióticos carbapenémicos se debió a la presencia del gen *bla*NDM-1¹³.

Mulvey M. et al. reportaron el caso de una mujer que en febrero del 2010 regresó a Vancouver, Columbia Británica, Canadá; luego de una estadía de 3,5 meses en el norte de la India, país donde llegó en buen estado de salud. En su estadía en el país mencionado su salud se fue deteriorando, empezando con diarrea persistente sin atención médica; luego de este evento fue hospitalizada por hipertensión e insuficiencia cardíaca congestiva, fue dada de alta y readmitida con diagnóstico de encefalitis no especificada e infección urinaria, tuvo tratamiento antibiótico. Su estado neurológico no mejoró, fue dada de alta en el hospital de la India y trasladada a un hospital en Vancouver donde fue ingresada a cuidados intensivos e intubada por su delicado estado de salud, finalmente falleció. De los aislamientos clínicos fueron caracterizadas New Delhi Metalo betalactamasa (NDM-1) en *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*¹⁴.

Brink A. et al.¹⁵ en el 2011 reportaron dos casos de la aparición por primera vez en Sudáfrica de New Delhi Metalo betalactamasa (NDM-1) en *Klebsiella pneumoniae* en un hospital privado de la ciudad de Johannesburgo y carbapenemasa (KPC-2) en *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter cloacae* en un hospital privado de la ciudad de Pretoria. En ambos casos los pacientes fallecieron.

Politi et al. realizaron un estudio que comprendió de enero 2013 a diciembre 2016, en el que analizaron 480 cepas provenientes de 8 hospitales en Grecia. Los aislados clínicos correspondieron a *Klebsiella pneumoniae*, no sensibles a carbapenémicos y fenotípicamente metalobetalactamasas. Realizaron identificación de genes de resistencia por PCR y otras técnicas de tipificación molecular como PFGE (Electroforesis de gel en campo pulsado) y MLST (Tipificación de multilocus de secuencia). La prueba molecular detectó el gen *bla*NDM-1 en 341 (71%) de cepas de *Klebsiella pneumoniae* que en su mayoría contenían los genes *bla*CTX-M-15, *bla*OXA y *bla*TEM-1. Basados en sus resultados, los autores concluyeron que este estudio probablemente evidencia el mayor brote de *Klebsiella pneumoniae* NDM-1 en Europa¹⁶.

En el 2017 Dong et al. realizaron el reporte de un estudio retrospectivo de 164 cepas de *Klebsiella pneumoniae* aisladas de hemocultivos entre enero de 2011 y septiembre de 2014 en el Hospital de Niños de Beijing. Observaron una alta tasa de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a carbapenémicos 31,7% (52); con predominio del gen *bla*NDM-1 identificado en 53,8% (28) cepas, seguido de *bla*IMP-4 con 36,5% (19) cepas y el gen *bla*KPC-2 en 7,7% (4) cepas¹⁷.

Mendes et al. en el 2020 realizaron un estudio en un centro hospitalario en el norte de Portugal analizaron 52 muestras, el 98,1% (51) correspondió a *Klebsiella pneumoniae* y el 1,9% (1) a *Escherichia coli*. De las 52 cepas se detectó por PCR el gen *bla*NDM en el 94,2% (49), el gen *bla*KPC en 1,9% (1) y en las dos cepas restantes no se detectó ningún gen¹⁸.

2.1.2 Antecedentes en Latinoamérica

El primer reporte en Latinoamérica se realizó en noviembre del 2011, la OPS dio una alerta epidemiológica ante el hallazgo de carbapenemasas de tipo NDM en 2 aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* en pacientes pediátricos en Guatemala, sin históricos de viajes^{11,19,20}.

El primer hallazgo de NDM en Paraguay fue en 2012, razón por la que este país emite una alerta epidemiológica ese mismo año. El hallazgo del gen NDM fue en una cepa de *Acinetobacter complejo baumannii* en un hospital de referencia del Departamento Central, Paraguay. La cepa fue aislada de una muestra de líquido cefalorraquídeo de un paciente pediátrico con antecedentes de internamiento en el centro mencionado²¹.

Escobar et al.²², en el 2013 reportaron el primer hallazgo de cepas productoras de NDM en 6 aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* en una unidad neonatal de un hospital en Bogotá, Colombia; lo que representó una gran preocupación por la rapidez de diseminación a nivel mundial.

En el 2013 el Servicio de Antimicrobianos del INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” confirmó en la ciudad de Buenos Aires, Argentina por primera vez colonización por enterobacteria productora de una MLB del tipo NDM. Las bacterias productoras de NDM son capaces de diseminarse tanto a nivel intrahospitalario como extrahospitalario.

Mientras que KPC se disemina por un único tipo clonal, NDM se disemina tanto vertical como horizontalmente por diferentes mecanismos como son expansión clonal y transferencia a otras especies de bacilos gram negativos respectivamente²³.

En julio del 2014 en Costa Rica se reportó el segundo caso de una enterobacteria resistente a carbapenémico, siendo la cepa *Klebsiella pneumoniae* NDM; dicha cepa fue aislada del urocultivo de un adolescente, se tomaron todas las medidas de vigilancia epidemiológica inclusive se tuvo especial atención con los contactos directos del paciente a quienes se les realizaron exámenes de heces con la finalidad de descartar la presencia de dicho gen obteniendo como resultado la ausencia de este; lo que asegura que las acciones oportunas de diagnóstico y control evitaron la dispersión del gen²⁴.

En el año 2014, en Guatemala se realizó un estudio de 54 cepas *K. pneumoniae* resistentes a imipenem y/o meropenem. El 91% (49 cepas) se detectó el gen *bla*NDM, mientras que en 9% (5 cepas) no se detectó el gen *bla*NDM, ni el gen *bla*KPC²⁵.

En el 2017, Resurrección et al. publicaron el primer reporte en Perú de *Klebsiella pneumoniae* NDM, estudiaron 9 cepas resistentes a carbapenémicos aisladas de muestras clínicas de pacientes hospitalizados durante el año 2016 en el Hospital Dos de Mayo. Lima, Perú. El descarte de carbapenemasas se realizó utilizando las metodologías de sinergia de doble disco con ácido fenilborónico (APB) y EDTA y el Test de Hogde modificado (MHT) según el manual CLSI 26th Ed. Los resultados con MHT fueron negativos, en tanto que con la sinergia de doble disco fueron positivos. Debido a que los resultados con el MHT fueron negativos para carbapenemasas, se eligió otra alternativa que fue el método de inactivación del carbapenémico (mCIM) que evidenció la presencia enzimática en las cepas estudiadas²⁰.

Sacsquispe R, Bailón H. realizaron un estudio donde describieron la presencia de genes de resistencia a carbapenémicos en enterobacterias de 12 hospitales de Perú, entre los años 2013 al 2017. Las cepas de las enterobacterias estudiadas fueron remitidas al Laboratorio de Referencia Nacional de infecciones Intrahospitalarias del Instituto Nacional de Salud (INS). Las cepas positivas para carbapenemasas fueron 83: 26 (31,3%) portadores del gen *bla*KPC, 56 (67,5%) portadores del gen *bla*NDM, y 1 (1,2%) portador del gen *bla*IMP²⁶.

Arbizú et al. realizaron un estudio descriptivo transversal, entre los meses de agosto 2015 a octubre de 2016 en un hospital en Managua, Nicaragua. La finalidad del estudio fue identificar metalobetalactamasa NDM, aislados de enterobacterias provenientes de diversos procesos infecciosos. Se analizaron 249 cepas, de las cuales 45 (18%) fueron resistentes a los carbapenémicos. De las 45 cepas, 43 dieron positivo para el test de sinergia con EDTA; 21 cepas eran portadoras del gen NDM. Se identificaron seis tipos de microorganismos causantes de sepsis por este gen, aislaron 15 (66%) cepas de *Klebsiella pneumoniae* que representó el microorganismo con mayor porcentaje de portador del gen en estudio²⁷.

Requena et al. (2018) en un laboratorio clínico en Maracay (Aragua, Venezuela) analizaron 605 cepas de enterobacterias provenientes de diferentes muestras, 16 cepas (2,64%) presentaron un patrón de multirresistencia a carbapenémicos, de estas, 87,5% fueron portadoras del gen *bla*NDM-1 y el 12,5% portadoras del gen *bla*KPC. Este estudio es el primer reporte de carbapenemasas tipo NDM-1 en el estado de Aragua²⁸.

La OMS²⁹ (2018) publicó el 29 de enero que “el nuevo Sistema Mundial de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos de la Organización, denominado GLASS por sus siglas en inglés, ha revelado la presencia generalizada de resistencia a los antibióticos en muestras de 500 000 personas de 22 países en las que se sospechaban infecciones bacterianas”.

Se han identificado muchas variantes del gen *bla*NDM, debido a la transmisión mediante plásmidos, diseminándose de forma acelerada vertical y horizontalmente entre enterobacterias. Además de portar plásmidos con el gen NDM, se ha reportado cepas (*Klebsiella pneumoniae* NDM-1) con otros tipos de carbapenemasas (OXA o VIM, AmpC plasmídicas o BLEE), generando mayor multirresistencia antibiótica³⁰.

2.2 Aspectos teóricos

Los antimicrobianos son sustancias producidas por microorganismos o sintetizadas químicamente con la finalidad de que sean utilizadas para combatir infecciones bacterianas debido a la capacidad de inhibir el crecimiento o destruir a los microorganismos, por lo tanto, impidiendo su proliferación. El tratamiento antibiótico se realiza cuando el paciente presenta indicios de infección por síntomas y signos clínicos.

A veces la terapia antibiótica se realiza sin conocer al agente causal de infección, basándose en datos clínicos y epidemiológicos o conociéndolo, habiéndose realizado pruebas microbiológicas de identificación y sensibilidad¹.

La resistencia bacteriana es la capacidad de un microorganismo de una determinada especie a sobrevivir en concentraciones de un determinado antimicrobiano que destruiría a otro microorganismo de la misma especie. La resistencia antimicrobiana puede ser de origen natural o adquirida, en el primer caso porque el microorganismo carece de la estructura o grupo químico que es el objetivo de acción del antimicrobiano; en el segundo caso el microorganismo genera una mutación cromosómica espontánea o adquiere material genético extracromosómico³¹.

Los antibióticos carbapenémicos son betalactámicos provistos de mayor espectro, actividad y resistencia a las betalactamasas. Estas características hacen que los carbapenémicos sean indispensables en la terapia empírica donde se presume de la presencia de una bacteria multirresistente, en la monoterapia de infecciones intrahospitalarias graves y terapia contra bacterias gram negativas multirresistentes o productoras de betalactamasas de amplio espectro y de espectro extendido³².

Un mecanismo de resistencia de gran importancia en bacterias gram negativas es la producción de carbapenemasas debido a que los aislamientos productores son resistentes no solo a carbapenémicos, sino también a otros antibióticos betalactámicos. Las carbapenemasas son enzimas codificadas por genes mayormente ubicados en elementos genéticos como integrones o insertados en elementos móviles como transposones y plásmidos, se han diseminado aceleradamente entre patógenos de importancia clínica, como Enterobacterias, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*³³.

Las carbapenemasas son enzimas que pertenecen a la familia de las betalactamasas, se han descrito dos tipos de carbapenemasas, las serinocarbapenemasas y las metalobetalactamasas mediante estudios moleculares. Las serinocarbapenemasas poseen serina en su sitio activo y las metalobetalactamasas necesitan cationes divalentes en su sitio activo, como el zinc. En 1980, Ambler basándose en las secuencias parciales del ADN, clasificó las betalactamasas en cuatro clases (A, B, C y D, así también en 1995

Bush, Jacob y Medeiros propusieron una clasificación funcional (1, 2, 3 y 4) en correlación con la clasificación de Ambler³⁴.

Conforme a la clasificación de Ambler, las carbapenemasas más comunes de clase A (serinocarbapenemasas) corresponden a KPC, GES, SME, IMI y NMC^{35,36} las que son ligeramente inhibidas por ácido borónico, ácido clavulánico y tazobactam³², mientras que en las carbapenemasas de clase B (metalobetalactamasas) se encuentran VIM, IMP y NDM que son inhibidas por el EDTA u otros quelantes, por otro lado, las carbapenemasas de clase D (oxacilinasas) tipo OXA, son poco inhibidas por inhibidores de betalactamasas y EDTA⁷⁰.

La bacteria productora de NDM-1 con más frecuencia es *Klebsiella pneumoniae*, típico patógeno nosocomial entre otras. NDM-1 es el subtipo de mayor frecuencia de la enzima NDM, la cual es de origen plasmídico y es codificada por el gen *bla*NDM-1. La NDM-1, es una MBL transferible que pertenece en la clasificación de Ambler a la clase molecular B, hidroliza a los antibióticos betalactámicos, excepto a los antibióticos monobactámicos como el aztreonam. Del mismo modo, las bacterias portadoras de NDM-1, pueden tener otros mecanismos de resistencia contra diversos tipos de antibióticos (fluoroquinolonas, aminoglucósidos, macrólidos y al trimetropim-sulfametoxazol)²⁰.

2.2.1 Género *Klebsiella*

Las primeras investigaciones del género *Klebsiella* fueron realizadas por el bacteriólogo alemán Edwin Klebs (1834-1913) en el año 1880, año en el que dio una descripción aproximada de bacilos del “grupo mucoso”. Posteriormente en 1882 Karl Friedlander dio descripciones más precisas de un bacilo capsulado proveniente de las vías respiratorias de pacientes con neumonía severa, conocido durante varios años como el bacilo de Friedlander. A finales del siglo XIX se denominó al género de estos bacilos como el género *Klebsiella* en honor a los trabajos realizados por Edwin Klebs, asimismo el bacilo de Friedlander se conoce en la actualidad como *Klebsiella pneumoniae*³⁷⁻⁴⁰. Con el transcurrir del tiempo la clasificación del género *Klebsiella* fue cambiando, así como también, se determinó que las neumonías causadas por *Klebsiella spp.* no se diferencian en su clínica de las originadas por otras bacterias gram negativas. El género *Klebsiella* está conformado por las especies *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* y *K. granulomatis*. Siendo

el principal patógeno *K. pneumoniae* el cual comprende a las subespecies (Tabla 1): *K. pneumoniae subsp. pneumoniae*, *K. pneumoniae subsp. rhinoscleromatis* (no fermentadora, asociada a rinoscleroma), *K. pneumoniae subsp. ozaenae* (no fermentadora, asociada a rinitis atrófica crónica). *K. variicola* es bioquímicamente muy similar a *K. pneumoniae*, aislada en sangre y orina⁴¹.

Tabla 1. Características fenotípicas de las subespecies de *K. pneumoniae*⁴².

	<i>K. pneumoniae</i>		
	<i>Subsp. pneumoniae</i>	<i>Subsp. ozaenae</i>	<i>Subsp. rhinoscleromatis</i>
Indol	-	-	-
Rojo de metilo	-	+	+
Voges - Proskauer	+	-	-
Citrato	+	-	-
ONPG	+	+	-
Ornitina descarboxilasa	-	-	-
Arginina dihidrolasa	-	-	-
Lisina descarboxilasa	+	V	-
Urea	+	V	-
Malonato	+	-	+
Lactosa	+	-	-
Crecimiento a 10°C	-	-	-
Movilidad	-	-	-

2.2.1.1 *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae es un bacilo gram negativo, anaeróbico facultativo, oxidasa negativo, posee cápsula, es no móvil, produce la enzima lisina descarboxilasa, pero no produce la enzima ornitina descarboxilasa, mayormente positivo en un 98%⁴³ a la prueba de Voges Proskauer³⁷⁻³⁹.

2.2.2 Importancia clínica

Infecciones intrahospitalarias por *Klebsiella spp* son ocasionadas principalmente por *Klebsiella pneumoniae*, la especie más importante del género⁴⁴.

Klebsiella pneumoniae, está ubicada entre las diez principales causantes de infecciones intrahospitalarias y en segundo lugar en importancia como causante de septicemia y de infecciones del aparato urinario⁴⁵. Las infecciones por *Klebsiella*, están vinculadas con la

hospitalización. Como patógeno oportunista, *Klebsiella spp.* infecta principalmente a pacientes inmunocomprometidos que están hospitalizados y sufren comorbilidades como la diabetes mellitus o la obstrucción pulmonar crónica⁴⁴.

Klebsiella pneumoniae ha cobrado gran importancia clínica debido a su incremento desmesurado como agente causal de infecciones de difícil tratamiento y potencialmente mortales. Existe un evidente incremento en la prevalencia de *K. pneumoniae* resistente, lo que explica además estancias hospitalarias prolongadas y una tasa de mortalidad que según algunos autores es de 27,3%. Asimismo, el ser humano puede ser portador de *K. pneumoniae* por años, llegando a desencadenar una infección y diseminación en ambientes hospitalarios y en la comunidad. Los pacientes colonizados con *K. pneumoniae* pueden desarrollar infecciones asociadas al cuidado de la salud, dos a cuatro veces más que los pacientes no colonizados⁴⁶.

Klebsiella pneumoniae está considerado en el grupo de patógenos bacterianos responsables de graves infecciones nosocomiales y de difícil tratamiento, denominados con el acrónimo “ESKAPE”: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter sp*⁴⁷. En el año 2017, la OMS publicó una lista de “patógenos prioritarios” resistentes a los antibióticos y más peligrosos para la salud humana, con la finalidad de tratar de guiar y promover la investigación y desarrollo de antibióticos más eficaces. El grupo de patógenos se divide en tres niveles de prioridad: crítica, alta y media. En el grupo de enterobacterias que pertenecen al nivel crítico están consideradas *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Proteus spp.*, y *Providencia spp.*, *Morganella spp.*, adicionalmente en el nivel crítico se encuentran *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*⁴⁸.

2.2.3 Factores de virulencia

Klebsiella pneumoniae emplea diversas estrategias para evitar el sistema inmunológico del hospedero y multiplicarse. Entre los factores de virulencia se encuentran:

2.2.3.1 Cápsula

K. pneumoniae posee una gruesa cápsula compuesta de polisacáridos, que interviene como factor clave en la virulencia de la bacteria⁴⁹, fue la primera especie en la que se

aislaron genes de resistencia a quinolona *gmr*⁴⁷. La cápsula también actúa como protección a la bacteria de la fagocitosis por polimorfonucleares (PMN) y de factores bactericidas séricos, inhibiendo la activación o la absorción de las moléculas del sistema de complemento particularmente C3b⁵⁰. Además de polisacáridos, la cápsula está constituida por ácidos complejos (ácido urónico), hay 78 serotipos capsulares denominados como K^{42,51}, 25 de estos serotipos han sido informados como más frecuentes y relacionados a 70% de aislamientos nosocomiales⁵¹. Los serotipos capsulares con mayor virulencia son K1, K2, K4 y K5 asociados a graves infecciones en humanos y animales. De los serotipos anteriormente mencionados, K1 y K2 son más virulentos y más resistentes a la fagocitosis^{42,51}.

El fenotipo hipermucoviscoso de *Klebsiella pneumoniae*, presenta cápsula con gran recubrimiento mucoviscoso de exopolisacáridos lo que la hace más resistente e hipervirulenta⁵¹.

2.2.3.2 Lipopolisacáridos (LPS)

El LPS o endotoxina es un factor de virulencia que se ubica en la superficie celular de las bacterias gram negativas, los LPS están compuestos por un antígeno O, un cuerpo de polisacárido y un lípido A⁵¹. Existen 9 variedades del antígeno O⁴², el cual es responsable de la resistencia al sistema de complemento, sus cadenas laterales pueden atravesar la cápsula y ser expuestas a la superficie de esta, protegiendo de esta manera a la bacteria⁵⁰.

2.2.3.3 Fimbrias

Las fimbrias son factores de virulencia que permiten la adhesión de la bacteria a distintas superficies^{42,51}. Las fimbrias poseen la capacidad de adhesión por diferentes clases de pili; son estructuras que se encuentran en la superficie de la bacteria, no son flagelos, miden hasta 10 µm de largo y un diámetro de entre 1 y 11 nm⁵⁰. *Klebsiella pneumoniae* posee principalmente dos tipos de fimbrias: tipo 1 pili (Hemaglutinina manosa sensible) y tipo 3 pili (Hemaglutinina resistente a manosa). El tipo 1 favorece la adherencia de la bacteria a células del tracto respiratorio y urinario. El tipo 3, además de favorecer la adherencia al tracto respiratorio y urinario, también favorece la adhesión de la bacteria a la superficie de hígado, pulmones, vejiga y probablemente participa en el desarrollo de la biopelícula o biofilm en *Klebsiella pneumoniae* principalmente en infecciones hospitalarias^{42,50}.

2.2.3.4 Sideróforos

Klebsiella pneumoniae, como otras bacterias necesitan del hierro que es un elemento indispensable para su desarrollo, sobrevivencia y producción de factores de virulencia (cápsula, fimbrias, toxinas). Para adquirir hierro la bacteria produce sideróforos, que son moléculas orgánicas de gran afinidad por el hierro obteniéndolo del huésped o del medio ambiente^{42,50,51}.

2.2.3.5 Biopelículas

Las biopelículas son agregaciones o cúmulos de bacterianos contenidos en una matriz extracelular constituida por diversas macromoléculas⁵². Los microorganismos pueden permanecer como células individuales o como población multicelular formando agregados bacterianos con una elevada organización. Las adhesinas permiten la adhesión inicial en una determinada superficie, este tipo de adhesinas que están presentes en *Klebsiella pneumoniae*, en gran parte son fimbrias de tipo 1 y de tipo 3. Las fimbrias y la producción de proteína asociada a la biopelícula, posteriormente una biopelícula madura constituida por una matriz de exopolisacáridos, se adhiere a superficies bióticas y no bióticas. El desarrollo de biopelícula tiene como finalidad la protección del microorganismo permitiéndole sobrevivir en ambientes y circunstancias desfavorables, inhibiendo la penetración de antibióticos y del sistema inmune del huésped^{42,51}. La formación de biopelícula está regulada por *quórum sensing* y otros sistemas; asegurando la colonización y resistencia antibiótica^{42,51,53}.

2.2.4 Agentes antimicrobianos

Los antimicrobianos son sustancias que pueden ser de origen natural, sintético o semisintético con la capacidad de eliminar o inhibir el desarrollo de microorganismos como bacterias, hongos, protozoos y virus. Estas sustancias antimicrobianas se utilizan en forma de medicamentos, tales como, antibióticos, antifúngicos, antiparasitarios, antivirales entre otros⁶.

El comienzo de un gran cambio en el campo de la medicina empezó en 1928 con el descubrimiento de la penicilina por Alexander Fleming y más adelante, en 1943 con su utilización en el tratamiento clínico de infecciones. En el transcurso de los años siguientes hasta la década de los años 70, se descubrieron nuevas drogas y se elaboraron drogas semisintéticas, razón por la cual se llamó a este periodo la Edad de Oro de los

Antibióticos. En cierto modo, los antibióticos constituyen la piedra angular de la medicina moderna debido a que, su utilización hizo posible tratamientos de infecciones y cirugías de gran magnitud como trasplantes que anteriormente habrían sido irrealizables⁵⁴.

Los antibióticos están conformados por diferentes clases de moléculas derivadas del metabolismo de bacterias y hongos; estas moléculas van a realizar acciones de tipo farmacocinético y farmacodinámico específicos en determinados microorganismos. La finalidad de estas moléculas es detener y aminorar la cantidad de bacterias viables o destruirlas^{55,56}.

2.2.4.1 Betalactámicos

Conformados por un anillo heterocíclico, constan de tres átomos de carbono y uno de nitrógeno. Este anillo betalactámico va a ser la base de varios tipos de antibióticos⁵⁷, como son las penicilinas, cefalosporinas carbapenémicos y monobactámicos⁵⁸. La actividad antimicrobiana de esta familia de antibióticos va a depender de la integridad del anillo betalactámico⁵⁸, cuyo mecanismo de acción es inhibir la síntesis de la pared celular⁵⁷. La pared celular bacteriana está conformada por péptidos y glicanos entrecruzados y unidos por enlaces covalentes, siendo las “proteínas de unión a penicilina” (PBP, del inglés *penicillin-binding proteins*) las enzimas claves para la síntesis de la pared bacteriana mediante varios procesos, siendo uno de ellos la transpeptidación³⁵. Los antibióticos betalactámicos actúan interfiriendo con la síntesis del peptidoglicano (transpeptidación) y activando la autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglicano⁵⁷. Estructuralmente los betalactámicos son similares a la D-alanil-D-alanina (aminoácidos del extremo terminal de las subunidades peptídicas precursoras del peptidoglicano), lo que favorece la unión del anillo betalactámico a las PBPs generando así la interferencia en la síntesis del peptidoglicano^{35,58}. Pertenecen a esta clase de antibióticos las penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenémicos. Muchos de estos antibióticos son sensibles a enzimas como betalactamasas, cefalosporinasas y enzimas de mayor espectro como las carbapenemasas⁴⁷.

2.2.4.1.1 Carbapenémicos

Los carbapenémicos son antibióticos betalactámicos que poseen amplio espectro de actividad antimicrobiana contra muchas bacterias gram positivas y gram negativas,

aerobios, anaerobios y además, son estables frente a gran parte de betalactamasas⁵⁹. Inhiben la síntesis de la pared celular durante la transpeptidación, se unen a las PBPs situadas en la cara externa de la membrana citoplasmática, debilitando la pared celular y provocando la lisis bacteriana⁵⁸. La diferencia entre los carbapenémicos se debe a la diferente afinidad por las PBPs⁵⁷. La tienamicina fue el primer antibiótico carbapenémico, el cual se aisló de *Streptomyces cattleya*; producto derivado de este carbapenémico es el imipenem, que fue el primer carbapenémico de uso clínico (1987). Posteriormente, en el año 1997 se inició la comercialización del meropenem; en los años 2002 y 2008 llegaron al mercado el ertapenem y el doripenem respectivamente⁵⁹.

2.2.5 Resistencia antimicrobiana

Como consecuencia de la emergencia de patógenos multirresistentes, nos dirigimos a una era semejante a la preantibiótica, donde no existían tratamientos disponibles para las infecciones bacterianas o en su defecto a la utilización de antibióticos antiguos en desuso por su elevada toxicidad⁶⁰. Un claro ejemplo es la reintroducción de colistín como tratamiento de última línea para bacilos gram negativos resistentes a carbapenémicos y otros antibióticos y solo sensibles a colistín y tigeciclina⁶¹. Es primordial la detección y monitorización de bacterias multirresistentes con la finalidad de tomar medidas que optimicen el uso de los antimicrobianos y contención de este tipo de patógenos⁶⁰.

A microorganismos con resistencias naturales a antibióticos, codificados regularmente en su cromosoma, se suma la emergencia de cepas con resistencia adquirida por mecanismo de transferencia genética horizontal, mediante elementos genéticos móviles como son los plásmidos, integrones, transposones. Además, fenómenos como la conjugación y transformación natural dieron como resultado la rápida diseminación de microorganismos resistentes a antibióticos a los que anteriormente resultaban ser susceptibles⁵⁴.

Estos mecanismos de resistencia aparecen en poblaciones bacterianas como consecuencia de errores en la replicación del ADN; pudiendo ser capaces de ocasionar un incremento de la tasa de mutación que indirectamente puede favorecer el aumento de mutantes resistentes⁶². La proliferación de cepas resistentes a múltiples antibióticos es consecuencia de dos vías principales de dispersión que pueden coexistir, como son “la adquisición horizontal de genes que codifican las carbapenemasas y la diseminación clonal de aislamientos productores de estas enzimas”⁵¹.

Klebsiella pneumoniae posee mecanismos de resistencia naturales y resistencias adquiridas. Un claro ejemplo de resistencia adquirida es la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) que son capaces de hidrolizar el anillo betalactámico de un gran número de antibióticos inactivándolos, como por ejemplo penicilinas, monobactámicos y cefalosporinas⁶³.

2.2.6 Mecanismos de resistencia a antibióticos Carbapenémicos

Entre los mecanismo de resistencia a antibióticos carbapenémicos para enterobacterias, se encuentran el sistema de bombas de eflujo, alteración de las porinas e hidrólisis enzimática mediada por betalactamasas tipo carbapenemasas⁶⁴.

2.2.6.1 Sistema de bombas de eflujo

Son proteínas de membrana que operan transportando al antibiótico desde el interior del espacio periplasmático de la célula bacteriana hacia el exterior de la misma, evitando que el antibiótico llegue a su sitio de acción y que las concentraciones del mismo sean ineficientes, generando así la resistencia bacteriana. Este sistema, no solo expulsa antibióticos sino una amplia variedad de sustancias como metabolitos, detergentes, solventes orgánicos, disminuyendo la cantidad de tóxicos en la célula, que es su principal función^{52,65,66}. *Klebsiella pneumoniae* contiene en su genoma operones que codifican para bombas de eflujo como AcrAB, OqxAB y KexD, siendo los más importantes que generan resistencia en esta bacteria⁶⁷.

2.2.6.2 Porinas de membrana

Las porinas están presentes en la membrana externa de bacterias Gram negativas y su estructura es diferente a las proteínas de membrana. Están compuestas de dos hojas β antiparalelas con secuencia polar, siendo la proteína extremadamente resistente a detergentes⁵². Estas proteínas forman canales de circulación de agua en la membrana externa cuya función es seleccionar la entrada de algunos agentes como por ejemplo son los antibióticos⁶⁶, esto es debido a los cambios en el diámetro y/o cantidad de estas proteínas que impiden que el antibiótico penetre la superficie bacteriana y alcance el núcleo celular, siendo esta la forma más frecuente de resistencia natural⁶⁵. Se clasifican conforme a su actividad (canales específicos o inespecíficos y poro selectivo), su estructura funcional (monomérica o trimérica) regulación y expresión⁵². OmpC y OmpF,

son porinas de *Escherichia coli* que han sido extensamente caracterizadas. En *Klebsiella pneumoniae*, las dos principales porinas son OmpK35 y OmpK36, son homólogos a OmpC y OmpF respectivamente. La mayoría de cepas de *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE expresan solo OmpK36; y las no productoras sintetizan ambas OmpK35 y OmpK36. La ausencia de OmpK35 podría ser uno de los factores que contribuyan a la resistencia en *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE⁶⁸.

2.2.6.3 Betalactamasas

El principal mecanismo resistencia bacteriana a antibióticos es la producción de betalactamasas, estas enzimas al escindir el anillo betalactámico del antibiótico lo deja sin actividad sobre los microorganismos^{35,36}. En el año 1980 Ambler realizó una clasificación considerando la interacción enzima sustrato y su secuencia de aminoácidos agrupándolas en cuatro clases moleculares (A, B, C, D). Las clases A, C y D corresponde a las SBLs son inhibidas por el APB. Por otro lado MBLs corresponden a la clase B y son inhibidas por quelantes del metal como EDTA, el ácido dipicolínico³⁴⁻³⁶ y Mercapto acetato de Sodio. Desde otra perspectiva en el año 1989 Karen Bush clasifica las betalactamasas en grupos funcionales en función de la inhibición de tipos específicos de betalactámicos y en características de inactivación de los inhibidores de betalactamasas. En el año 1995, Bush-Jacoby-Medeiros establecen otra clasificación siendo actualizada en el 2010 por Bush-Jacoby. En esta última clasificación consideran características como son pesos moleculares, puntos isoelectricos, sustratos, sustancias por las que son inhibidas como el ácido clavulánico y tazobactam o EDTA. En la actualidad tanto la clasificación de Ambler y la de Bush-Jacoby están correlacionadas^{34,36} (Tabla 2).

Tabla 2. Comparando los sistemas de nomenclatura³⁴.

Bush-Jacoby	Ambler	Sustratos	Inhibidos por EDTA	Inhibidos por Acido Clavulámico o Tazobactam	Tipos de Enzimas Betalactamasa
1	Clase C	Cefalosporinas Cefamicinasas	(-)	No	P99 FOX-4
2	Clase A	Penicilinas	(-)	Si	PC1
2a				Si	TEM -1, SHV-1
2b				Si	TEM - 10, SHV-2
2be				No	TEM - 30
2br				No	TEM - 50
2ber				Si	RTG - 4
2ce				Clase D	Penicilinas Cefalosporinas Carbapenémicos
2d	Si	CepA			
2de	Variable	KPC-2			
2df	No				
2e					
2f	Clase B	Carbapenémicos	(+)	No	NDM-1, VIM-2, IMP-1
3					
3a				B1	
3b				B2	
3a	B3				L1

2.2.6.3.1 Carbapenemasas Metalobetalactamasas

Las carbapenemasas son betalactamasas capaces de hidrolizar a casi todos los antibióticos betalactámicos, incluso a los carbapenémicos. Los inhibidores de betalactamasas no logran inactivar a muchas de estas carbapenemasas³⁰.

Las metalobetalactamasas son carbapenemasas de clase B, actúan frente una gran variedad de antibióticos como penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos, no son capaces de hidrolizar monobactámicos, como el aztreonam. Los inhibidores como el ácido clavulánico, tazobactam o sulbactam no inhiben a este tipo de carbapenemasas, sin embargo, son inhibidas por quelantes ya mencionados. Las carbapenemasas de clase B están subdivididas en B1, B2 y B3; siendo la de mayor interés clínico la subclase B1 debido a su mayor diseminación y transmisión mediante elementos móviles. Esta subclase las conforman: IMP, VIM y NDM³⁰.

2.2.6.3.1.1 New Delhi Metalobetalactamasa (NDM)

NDM desarrolla en los microorganismos multirresistencia a los antibióticos inclusive los carbapenémicos. Esta enzima se encuentra presente en diferentes géneros y especies bacterianas; asimismo, tiene más de una decena de variantes debido a que el gen *bla*-NDM se encuentra en plásmidos^{30,69}, de diferentes tamaños y son propensos a

reordenamientos generando rápida movilización y patogenicidad. La movilidad de este gen es una característica importantísima debido a que, indica un gran potencial de propagación entre poblaciones bacterianas del mismo paciente⁷⁰.

Se ha descrito NDM en enterobacterias y con mayor frecuencia en *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, sin embargo, se pueden encontrar en otras enterobacterias como *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus spp*, *Klebsiella oxytoca*, *Providencia sp* y *Morganella morganii*. Asimismo, se ha informado la presencia de este gen en no fermentadores de glucosa como *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*⁷⁰.

La enzima NDM-1 es una lipoproteína que se encuentra anclada en la cara interna de la membrana externa de las bacterias gram negativas, al contrario de que las demás MBLs que son enzimas periplasmáticas solubles. Una señal de lipidación denominada *lipobox* en el péptido líder de NDM-1 es responsable de esta localización celular. Se han detectado 19 variantes de NDM, las que difieren de NDM-1 en 1 a 3 mutaciones puntuales. Todas estas variantes se encontrarían ancladas a la membrana debido a que comparten la señal de lipidación encontrada en NDM-1⁵⁴ (Figura 1).

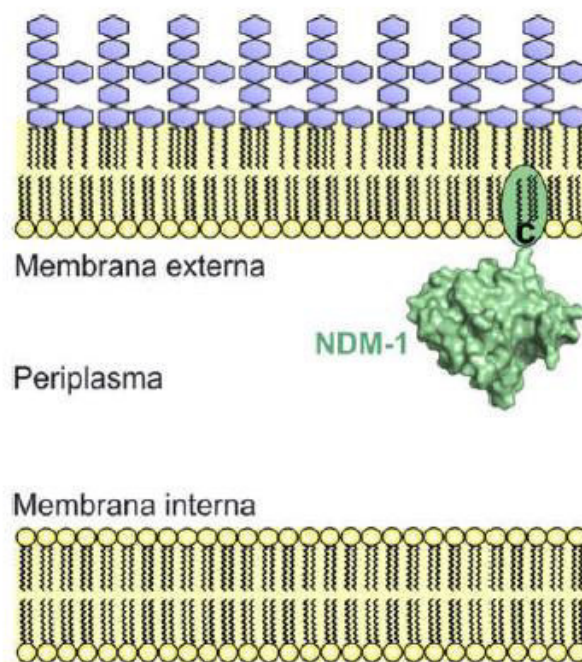


Figura 1. Esquema de la localización celular de NDM-1, anclada mediante su grupo lipídico a la cara periplasmática de la membrana externa⁵⁴.

III. METODOLOGÍA

3.1 Tipo de estudio

El presente trabajo de investigación es un estudio observacional, descriptivo, de corte transversal.

3.2 Diseño metodológico

Estudio es de tipo observacional, descriptivo, de corte transversal.

3.3 Unidad de análisis

Cepas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a carbapenémicos aisladas de muestras de hisopados rectales, entre marzo a mayo 2018. Provenientes del Hospital Nacional nivel IV, Lima – Perú.

3.4 Población de estudio

Cepas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a carbapenémicos, aisladas de muestras de hisopados rectales.

3.5 Muestra o tamaño de muestra

El tamaño de muestra corresponde al 100% (51) de cepas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a carbapenémicos aisladas de muestras de hisopados rectales, entre marzo a mayo 2018.

3.6 Criterios de selección

3.6.1 Criterios de inclusión

Cepas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a carbapenémicos aisladas de hisopados rectales.

3.6.2 Criterios de exclusión

- Cepas de *Klebsiella pneumoniae* sensibles a carbapenémicos.
- Cepas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a carbapenémicos aisladas de muestras que no sean hisopados rectales.
- Cepas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a carbapenémicos que sean de un paciente conocido.

- Cepas de enterobacterias resistentes a carbapenémicos que no sean *Klebsiella pneumoniae*.

3.7 Técnicas o instrumentos de recolección de la información o de datos

3.7.1 Aislamientos bacterianos

En el estudio se recolectaron 51 cepas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a carbapenémicos y otros antibióticos betalactámicos, aisladas de muestras de hisopados rectales de pacientes internados.

3.7.2 Sensibilidad antimicrobiana

Los datos de la sensibilidad antimicrobiana de cada cepa se tomaron de los reportes del sistema automatizado MicroScan WalkAway (SiemensMedical Solutions Diagnostics) del Laboratorio de Microbiología del hospital.

3.7.3 Conservación de las cepas

Las cepas de *Klebsiella pneumoniae* en estudio se recibieron en crioviales conteniendo 1,5 mL de CTS con glicerol al 15% y fueron almacenados a una temperatura de -20°C para su conservación y posterior análisis en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

3.7.4 Activación de cepas

Las cepas en estudio fueron descongeladas a temperatura ambiente y posteriormente fueron reactivadas sembrándolas en placas con TSA y agar MacConkey y se incubaron a 35°C por 18 a 20 horas (Figura 2).

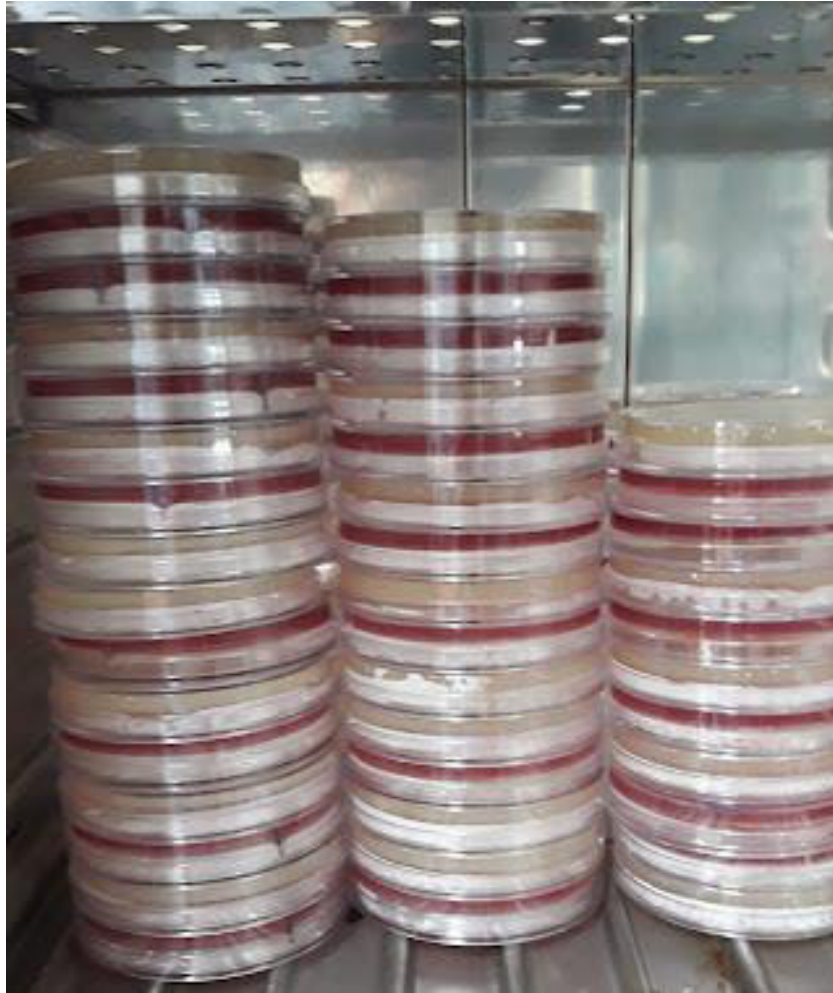


Figura 2. Cepas de *Klebsiella pneumoniae* en estudio sembradas en placas con TSA y MacConkey

3.7.5 Identificación bioquímica

Se realizó la identificación de cada cepa clínica de *Klebsiella pneumoniae* en los siguientes medios⁴³:

- Agar MacConkey, medio diferencial y selectivo para bacilos gram negativos.

Para la batería bioquímica, se utilizó:

- Agar TSI (Agar triple azúcar y hierro)
- Agar LIA (Agar Lisina Hierro)
- Agar Citrato de Simmons
- Agar SIM (Sulfuro de Hidrógeno - Indol - Movilidad)
- Agar Urea

3.7.6 Confirmación fenotípica de enterobacterias productoras de carbapenemasas - metalobetalactamasas

3.7.6.1 Método modificado de inactivación del carbapenémico (mCIM)

Se utilizó para confirmar si las cepas en estudio eran productoras de carbapenemasas. Con un asa microbiológica estéril y descartable de 1µL, se cogió la bacteria a estudiar de un cultivo fresco en agar Mueller Hinton (MHA), la asada se transfirió a un tubo con 2 mL de caldo tripticasa soya (CTS) mezclando la suspensión en vortex. Se adicionó un disco de meropenem de 10 µg a esta suspensión y se incubó por 4 horas a una temperatura de 37°C en ambiente de aire con la finalidad de que en caso la bacteria en estudio sea una productora de carbapenemasas, el carbapenémico en el disco sea hidrolizado. A continuación, antes de cumplir las 4 horas de incubación, se preparó una suspensión de 0,5 McFarland de *Escherichia coli* ATCC® 25922, la cual se inoculó con un hisopo estéril en la superficie de una placa de agar MHA. Una vez concluidas las 4 horas, se procedió a remover el disco del CTS usando un asa de 10 µL eliminando el excedente de líquido del mismo. El disco de meropenem, se colocó inmediatamente en la placa del MHA inoculada anteriormente con *Escherichia coli* ATCC®25922. Seguidamente se incubó la placa a una temperatura de 37°C en ambiente de aire. Después de 24 horas de incubación, se midió el halo de inhibición alrededor del disco de meropenem⁷¹ (Tabla 3).

Tabla 3. Interpretación de resultados de mCIM⁷¹.

Carbapenemasas	Positiva	Negativa	Indeterminado
Halo de inhibición	6-15mm o colonias dentro de un halo de 16-18 mm.	Mayor de 19 mm.	16-18 mm (no se puede confirmar producción de carbapenemasas)

3.7.6.2 Detección fenotípica de Metalobetalactamasas (MBLs) con el test de sinergia de doble disco con EDTA

El test de sinergia de doble disco con EDTA se utilizó para la detección fenotípica de MBLs clase B. La prueba consiste en utilizar como agente quelante un disco de EDTA (también se puede utilizar ácido mercaptoacético de sodio (SMA), ácido dipicolínico

(DPA) o ácido 2-mercaptopropiónico (MPA), un disco de Imipenem (10 µg) y otro de Meropenem (10 µg)⁵⁵. Se realizó una suspensión de la cepa en estudio en solución salina y se llevó a 0,5 escala de Mc Farland. Posteriormente se inoculó en una placa de agar Mueller Hinton, se dejó secar entre 3 a 5 minutos para luego colocar un disco de EDTA en el centro de la placa y se rodeó con los discos de Imipenem y Meropenem con una distancia de 1,5 mm de centro a centro. Se incubó a 35°C por 16 a 20 horas. Al finalizar el tiempo de incubación los resultados se interpretaron como positivos cuando se observó una ampliación del halo de inhibición del carbapenémico en la zona cercana al agente quelante (sinergia)⁷².

3.7.7 Detección genotípica

Se realizó la extracción de ADN y posteriormente se utilizó el Protocolo de PCR para la detección del gen NDM en aislamientos de bacilos gram negativos del Servicio de Antimicrobianos, Instituto de Salud “Dr. Carlos Malbrán”, Buenos Aires, Argentina⁷³ (Tabla 4, Tabla 5, Tabla 6).

Extracción de ADN

La extracción de ADN fue por lisis celular mediante ebullición. Las cepas seleccionadas de *K. pneumoniae* se reactivaron en placas de TSA incubándolas durante 18 horas a 37°C, después de transcurrido el tiempo se resuspendieron 2 a 3 colonias en un criovial con 200 µL del buffer TE 1X (Tris-HCL-EDTA pH 7,5), después de mezclar la suspensión en vortex se dispensó 20 µL de proteinasa K y se incubó en baño maría a una temperatura de 56°C por 30 minutos, posteriormente se llevó a baño maría en ebullición por 10 minutos. Se retiró la muestra, se dejó enfriar, se centrifugó a 5600 RPM (revoluciones por minuto) por 10 minutos. Finalmente se conservó el sobrenadante a -20°C^{55,74,75}.

Tabla 4. Amplificación de genes que codifican para *bla*NDM⁷³

Nombre primer	Gen	Secuencia 5'-3'	Tamaño amplicón
NDM-F	NDM	AGC ACA CTT CCT ATC TCG AC	512 pb
NDM-R		GGC GTA GTG CTC AGT GTC	

Tabla 5. Formulación para amplificación en PCR del gen *bla*NDM⁷³

Mezcla de reacción	
Reactivo	Volumen
ADN	2,5 µl
Buffer 10X	2,5 µl
MgCl ₂ (50 mM)	0,75 µl
dNTP's (10 mM)	0,5 µl
Taq polimerasa (5U/µl)	0,15 µl
Primer Forward (10 µM)	0,5 µl
Primer Reverse (10 µM)	0,5 µl
H ₂ O	17,6 µl
Volumen final	25 µl

Tabla 6. Parámetros para la amplificación del gen *bla*NDM⁷³

Parámetros para la amplificación del gen <i>bla</i> NDM			
	Proceso	Temperatura	Tiempo
	Desnaturalización inicial	94°C	5 min
35 ciclos	Desnaturalización	94°C	30 s
	Hibridación	50°C	30 s
	Amplificación	72°C	60 s
	Extensión final	72°C	10 min

*°C: grados centígrados, min: minutos, s: segundos.

Electroforesis en gel de agarosa

Se preparó gel de agarosa 1,5% disuelto en buffer TBE 0,5X con el que se realizó la corrida electroforética. Se dispensó el marcador y muestras posteriormente se graduó el voltaje a 95 voltios por 45 minutos. Concluido el tiempo se colocó el gel en un transiluminador para la visualización de los fragmentos de ADN como bandas (Figura 3).

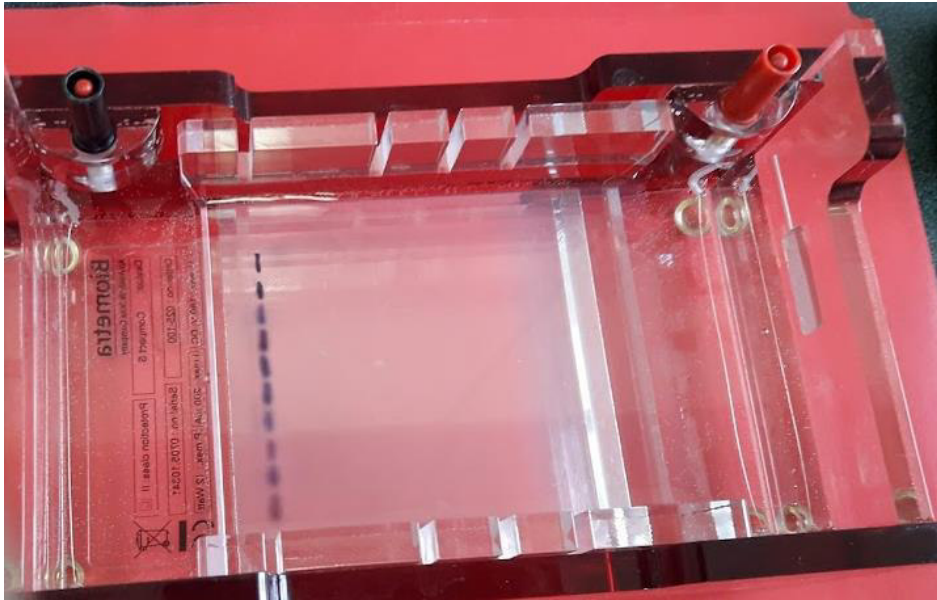


Figura 3. Corrida electroforética en gel de agarosa

IV. RESULTADOS

4.1 Perfil de sensibilidad antimicrobiana y características epidemiológicas de las cepas en estudio de *Klebsiella pneumoniae*.

Las características del perfil de sensibilidad antimicrobiana de las cepas en estudio de *Klebsiella pneumoniae* aisladas de hisopados rectales evidenció que el 100% (51/51) eran resistentes a Imipenem, Meropenem y Ertapenem (Posibles carbapenemasas) (Figura 4).

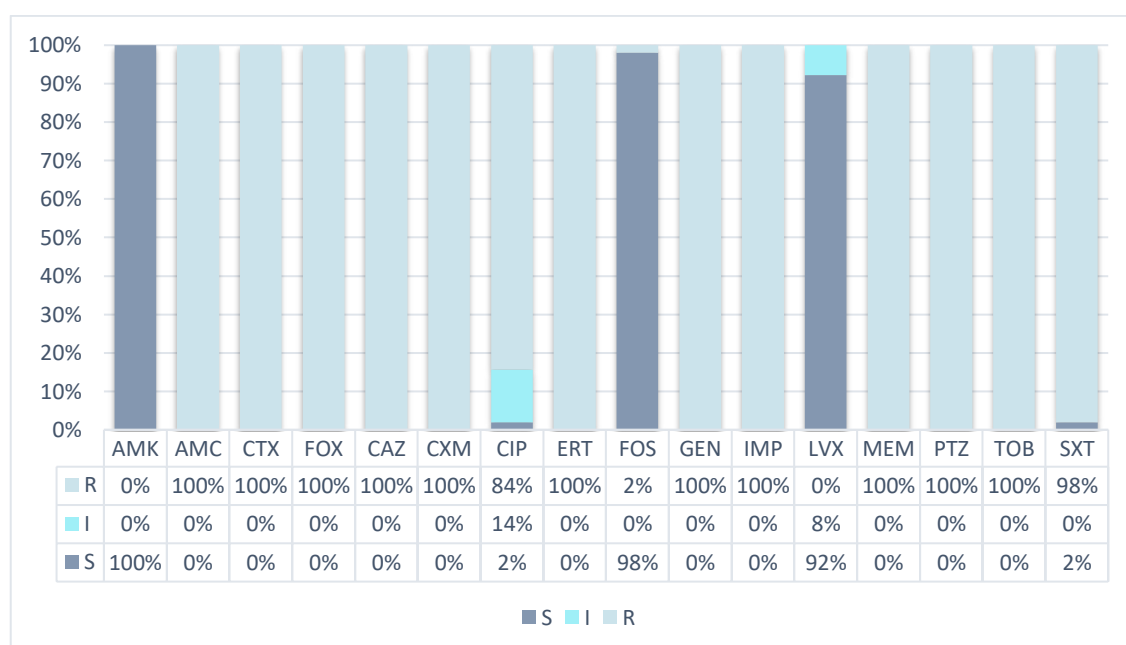


Figura 4. Resultados del Perfil de sensibilidad antimicrobiana de las cepas en estudio de *Klebsiella pneumoniae* aisladas de hisopados rectales.

Como se observa en la Figura 4 el perfil de sensibilidad antimicrobiana de las cepas en estudio fue el siguiente:

AMK (Amikacina) 100% (51/51) Sensible.

AMC (Amoxicilina/ Ác. Clavulánico) 100% (51/51) Resistente.

CTX (Cefotaxima) 100% (51/51) Resistente.

FOX (Cefoxitina) 100% (51/51) Resistente.

CAZ (Ceftazidima) 100% (51/51) Resistente.

CXM (Cefuroxima) 100% (51/51) Resistente.

CIP (Ciprofloxacina) 84% (43/51) Resistente; 14% (7/51) Intermedio; 2% (1/51) Sensible.

ERT (Ertapenem) 100% (51/51) Resistente.
FOS (Fosfomicina) 2% (1/51) Resistente; 98% (50/51) Sensible.
GEN (Gentamicina) 100% (51/51) Resistente.
IMP (Imipenem) 100% (51/51) Resistente.
LVX (Levofloxacin) 8% (4/51) Intermedio; 92% (47/51) Sensible.
MEM (Meropenem) 100% (51/51) Resistente.
PTZ (Piperacilina/Tazobactam) 100% (51/51) Resistente.
TOB (Tobramicina) 100% (51/51) Resistente.
SXT (Trimetoprima/Sulfametoxazol) 98% (50/51) Resistente, 2% (1/51) Sensible.

En relación de las características epidemiológicas con presencia de carbapenemasas tipo *bla*NDM en cepas de *Klebsiella pneumoniae* aisladas de hisopados rectales según servicio de hospitalización, se determinó que: el 20% (10/50) provinieron del servicio de Medicina Interna, el 14% (7/50) de Cuidados Intermedios, el 10% (5/50) de Hematología Clínica, el 6% (3/50) de Cirugía General, al igual que Cuidados Intensivos, el 4% (2/50) de Neurología, al igual que Cirugía Cabeza y Cuello, así como Gastroenterología, el 2% (1/50) provinieron de los servicios de Geriátrica, al igual que Oncología, Cirugía Plástica y Quemados, 12% (6/50) Sala de Observación – Emergencia y 14% (7/50) Unidad de Cuidado Especiales – Emergencia (Ver Figura 5). De acuerdo a la edad: el 18% (9/50) corresponden a las edades de 0 a 11 años, el 4% (2/50) a las edades de 12 a 17 años, el 6% (3/50) a las edades de 18 a 29 años, el 22% (11/50) a las edades de 30 a 59 años y el 50% (25/50) a 60 a más años (Ver Figura 6). Según el sexo de los pacientes, la distribución de las cepas en estudio fue de 62% (31/50) sexo masculino y el 38% (19/50) sexo femenino (Ver Figura 7).

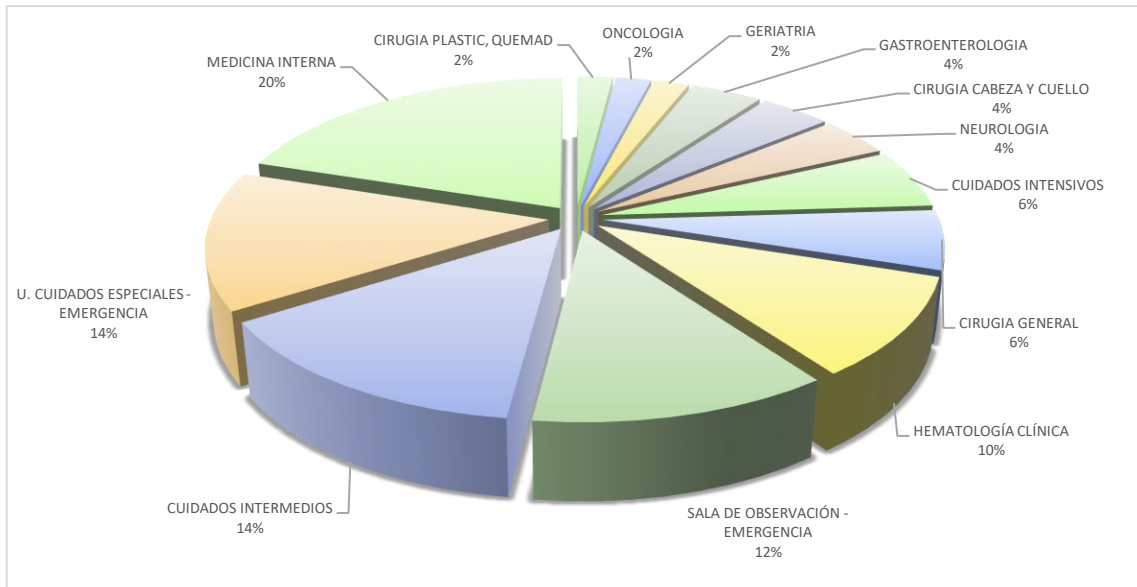


Figura 5. Presencia de carbapenemasas tipo *blaNDM* en cepas de *Klebsiella pneumoniae* aisladas de hisopados rectales según servicio de hospitalización.

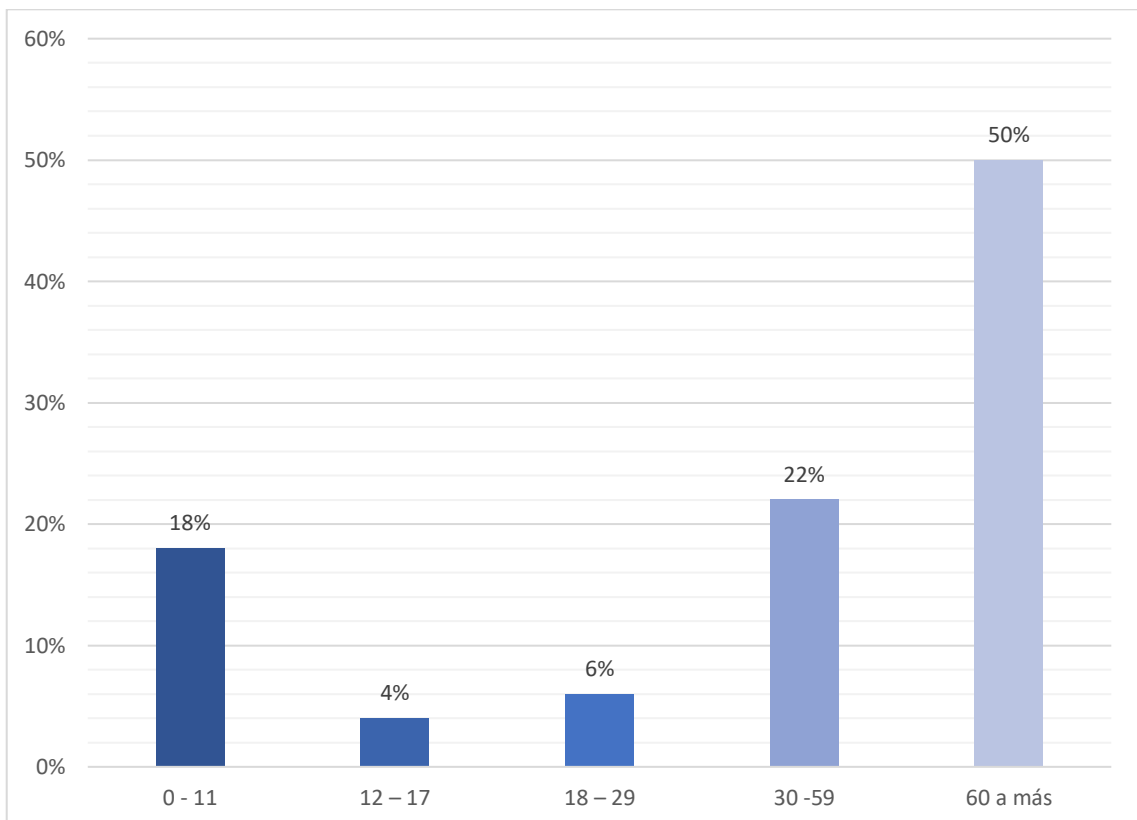


Figura 6. Presencia de carbapenemasas tipo *blaNDM* en cepas de *Klebsiella pneumoniae* aisladas de hisopados rectales según edad.

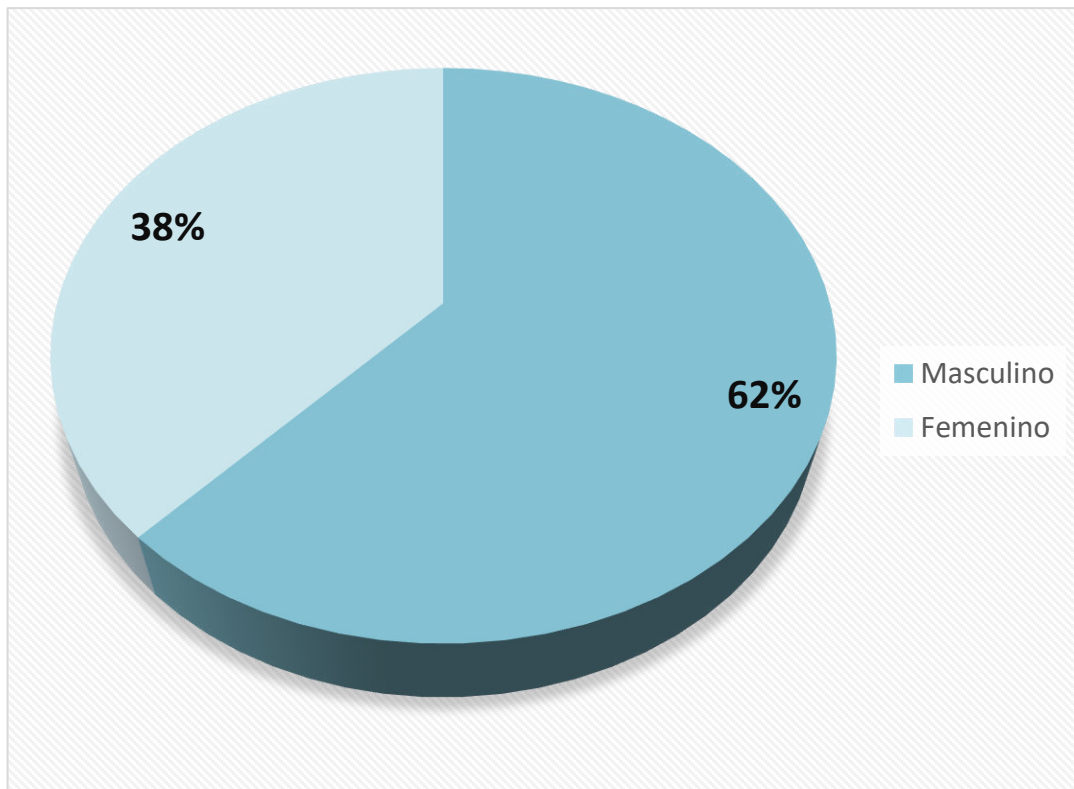


Figura 7. Presencia de carbapenemasas tipo *blaNDM* en cepas de *Klebsiella pneumoniae* aisladas de hisopados rectales según sexo.

4.2 Identificación bioquímica

Se realizó la siembra de las cepas en estudio en agar MacConkey como resultado crecieron colonias de forma circular, borde regular, lisas, brillantes y mucoides de color rosado-rojizo evidenciado la presencia de un bacilo gram negativo fermentador de lactosa (Figura 8). En la batería bioquímica (Figura 9) se utilizó agar TSI evidenciado fermentación de glucosa, lactosa y sacarosa, producción de gas y ausencia de producción de H₂S (A/A, Gas +, H₂S -); agar Citrato de Simmons se tornó de color azul evidenciado su utilización del citrato por la bacteria (Azul +); agar LIA evidenció descarboxilación de la lisina y ausencia de H₂S (K/K, H₂S -); agar Urea evidenció la producción de ureasa tornándose rosa (Rosa +) y agar SIM demostró ausencia de H₂S y movilidad e indol negativos (H₂S -, Movilidad -, Indol -). Con estos resultados se confirmó que el 100% (51/51) cepas en estudio correspondían a la especie *Klebsiella pneumoniae*.

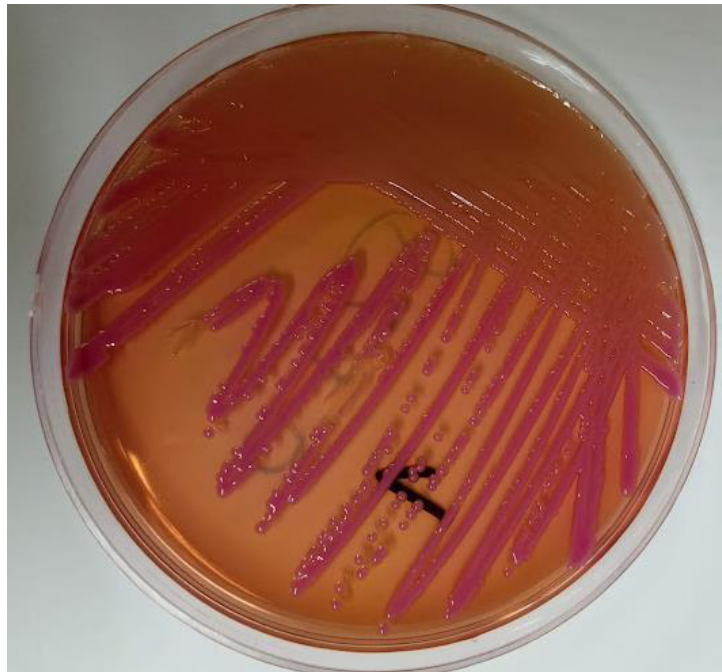


Figura 8. Cepa en estudio de *Klebsiella pneumoniae* en agar MacConkey.

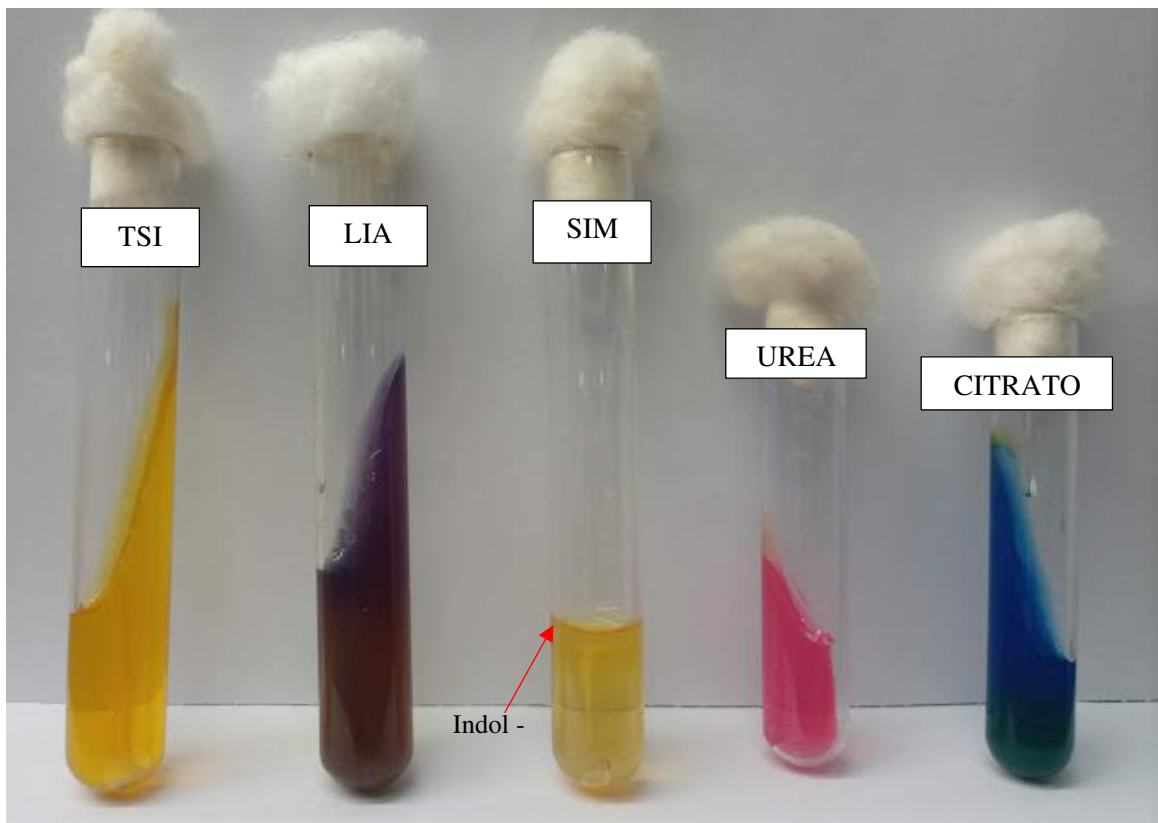


Figura 9. Identificación Bioquímica de cepa en estudio *Klebsiella pneumoniae*.

Interpretación de la figura 9, lectura de izquierda a derecha: TSI (A/A, Gas +, H₂S -), LIA (K/K, H₂S -), SIM (H₂S -, Movilidad -, Indol -), Urea (Rosa +), Citrato de Simmons (Azul +).

4.3 Detección fenotípica de carbapenemasas - metalobetalactamasas

El 98% (50/51) de las cepas resistentes a carbapenémicos, dieron como resultado positivo a productores de carbapenemasas, mediante el Método modificado de inactivación del carbapenémico (mCIM) (Figura 10).

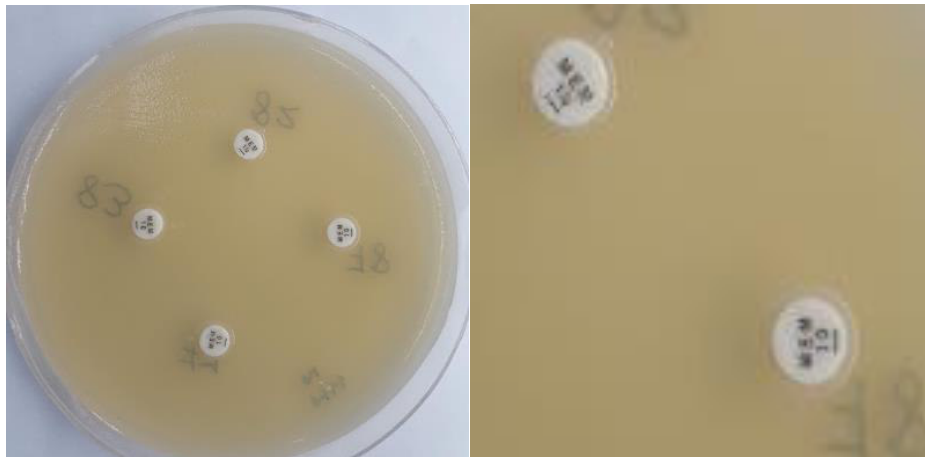


Figura 10. Método modificado de inactivación del carbapenémico (mCIM) con resultado positivo.

La figura 10 evidencia las cepas en estudio positivas para el test mCIM, con un halo de inhibición de 6 mm alrededor del disco de meropenem.



Figura 11. Método modificado de inactivación del carbapenémico (mCIM).

La figura 11 evidencia a la izquierda una cepa en estudio con resultado negativo para el test mCIM, con un halo de inhibición de 19 mm alrededor del disco de meropenem, y a la derecha una cepa en estudio con resultado positivo para el test mCIM, con un halo de inhibición de 6 mm alrededor del disco de meropenem.

Se utilizó el test de sinergia de doble disco (Figura 12) utilizando como inhibidor EDTA para detección de metalobetalactamasas, 98% (50/51) de las cepas en estudio dieron positivas al test, con lo que se evidenció la producción de enzimas carbapenemasas tipo B o metalobetalactamasas.

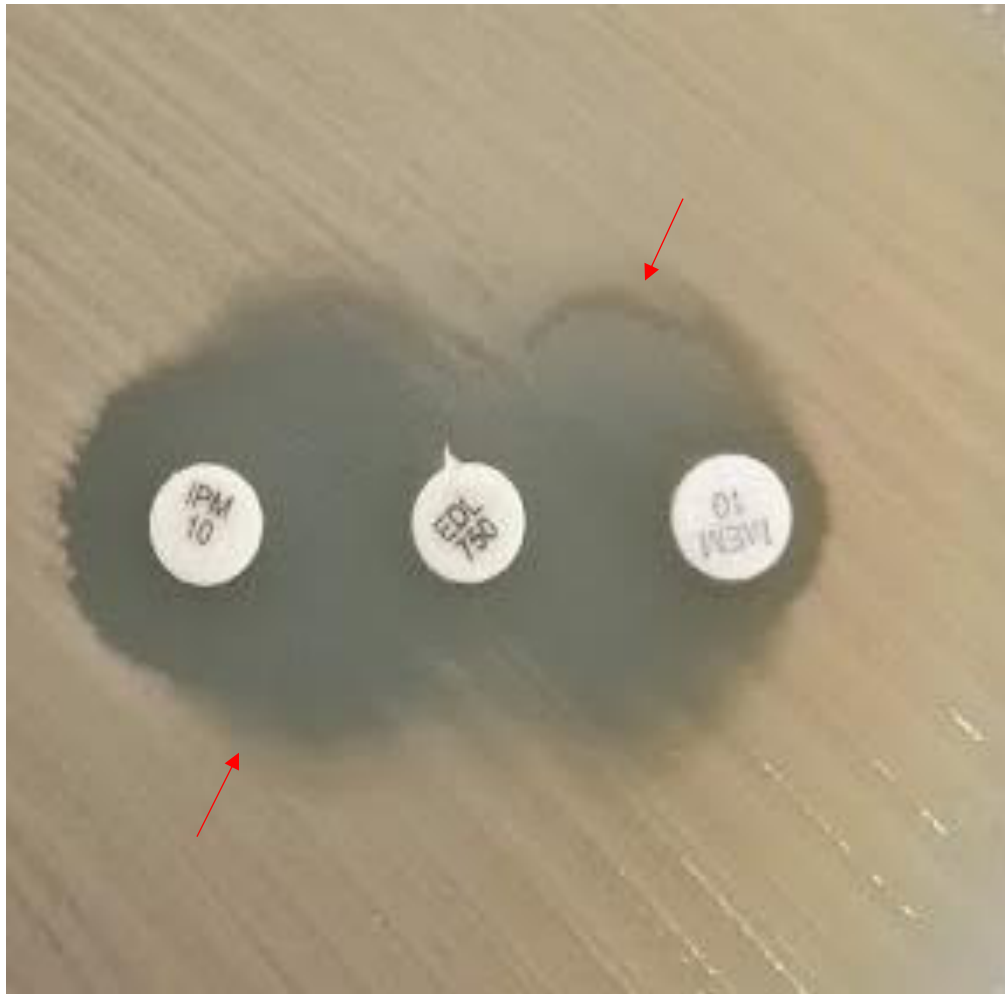


Figura 12. Sinergia de doble disco con el inhibidor EDTA.

La figura 12 corresponde a una prueba fenotípica positiva de una cepa clínica de *Klebsiella pneumoniae* productora de metalobetalactamasa. Las flechas indican la deformación del halo de inhibición de crecimiento de la bacteria entre el disco de EDTA y los discos de IMP y MEM.

4.4 Detección genotípica de *bla*NMD

La detección genotípica del gen *bla*NMD (Figura 13) evidenció la presencia de este gen de resistencia en 50/51 cepas en estudio de *Klebsiella pneumoniae* aisladas de hisopado rectales.

El 2% (1/51) de las cepas en estudio de *Klebsiella pneumoniae* aisladas de hisopados rectales no evidenció la presencia del gen *bla*NMD.



Figura 13. Electroforesis de muestras de *Klebsiella pneumoniae* en estudio.

Electroforesis de PCR convencional para el gen *blaNDM* de 512 bp. Carril 1: Ladder de 100 pares de base (bp), Carriles 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11: Cepas clínicas de *Klebsiella pneumoniae* positivas para el gen *blaNDM*, Carril 6: Blanco.

V. DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados de la sensibilidad antimicrobiana de las cepas en estudio, el 100% (51/51) fueron resistentes a carbapenémicos (Imipenem, Meropenem, Ertapenem), para confirmar la producción de carbapenemasas se realizaron pruebas fenotípicas. La identificación fenotípica de cepas productoras de carbapenemasas, se realizó utilizando el mCIM debido a su alta sensibilidad y especificidad según sugerencias de CLSI, en el presente estudio esta prueba evidenció la presencia de cepas productoras de carbapenemasas en un 98% (50/51) y la ausencia de cepas productoras de carbapenemasas en un 2% (1/51) esto último causado posiblemente por otros mecanismos de resistencia. El mCIM tiene un desempeño >99% de sensibilidad y >99% de especificidad para la detección de Enterobacteriaceae productores de carbapenemasas método que se encuentra descrito en el documento CLSI Boletín de Noticias⁷¹. Desempeño que es ratificado por otros estudios como el de Reyes et al., donde la evaluación del mCIM como método para detectar carbapenemasa tipo KPC en Enterobacteriaceae presentó una sensibilidad y especificidad cercana al 100%⁷⁶. Yu et al. realizaron un estudio con 145 cepas de enterobacterias en las que evaluaron el mCIM para la detección de carbapenemasas, las cepas seleccionadas eran positivas para un gen de carbapenemasas, el mCIM dio resultado positivo para estas cepas por lo que concluyeron que es un método simple y eficaz para la detección de carbapenemasas en enterobacterias⁷⁷. Para la detección fenotípica de metalobetalactamasas en el presente estudio se utilizó el test de sinergia de doble disco con EDTA, que es un método sencillo, eficaz y de bajo costo. Para realizar este método se utilizó un disco de EDTA rodeado de dos carbapenémicos (Imipenem y Meropenem), y como resultado se originó sinergia entre los carbapenémicos y el disco de EDTA, que confirmó la presencia de carbapenemasas tipo MBL en un 98% (50/51) de las cepas en estudio; método utilizado también en el estudio de Resurrección et al., en el que obtuvo como resultado la presencia de MBL en un 100% de las cepas estudiadas, de forma similar al estudio de Medina C, que confirmó la presencia de MBL en un 98,48% de las cepas resistentes a carbapenémicos^{20,55}.

El método PCR convencional para la detección del gen *bla*NDM en las cepas en estudio, evidenció la presencia del gen en el 98% (50/51) de cepas de *Klebsiella pneumoniae*, resultados que concuerdan con el estudio realizado por Velásquez-Lau en un hospital en

la ciudad de Guatemala durante el año 2014, demostró que de 54 aislamientos de *Klebsiella pneumoniae*, el 91% (49 aislamientos) presentaron el gen *bla*NMD, en los 5 aislamientos restantes (9%) no se detectó ningún gen en estudio *bla*NDM y *bla*KPC²⁵. Además, concuerda con el estudio realizado por Politi et al. comprendido de enero 2013 a diciembre 2016, en el que analizaron 480 cepas de *Klebsiella pneumoniae* provenientes de 8 hospitales en Grecia, la prueba molecular detectó el gen *bla*NDM-1 en 71% (341)¹⁶. En el estudio realizado por Requena et al. en enterobacterias el 87,5% que presentaron un patrón de multirresistencia eran portadoras del gen *bla*NDM y el 12,5% portadoras del gen *bla*KPC²⁸. Y en otros estudios realizados en Perú, como el estudio realizado por Sacsquispe R, Bailón H. en enterobacterias resistentes a carbapenémicos aisladas en hospitales peruanos entre los años 2013 al 2017, indicaron que el gen *bla*NDM fue el de mayor prevalencia con 67,5% (56 cepas), seguido del gen *bla*KPC con 31,3% (26 cepas) y del gen *bla*IMP con 1,2% (1 cepa)²⁶. La presencia del gen *bla*NDM y muchas de sus variantes se incrementan rápidamente a nivel mundial, incluyendo el Perú; este incremento se debe a la transmisión mediante plásmidos que diseminan este gen aceleradamente de forma vertical y horizontalmente entre enterobacterias y puede darse tanto a nivel hospitalario como extrahospitalario.

En el presente estudio se determinó que el servicio con mayor número de *K. pneumoniae* con presencia del gen *bla*NDM fue Emergencia (Sala de observación - Unidad de Cuidados Especiales) 26% seguido del servicio de Medicina Interna con 20%, Cuidados Intermedios con 14% y Hematología Clínica 10%, en un estudio similar realizado por Velásquez-Lau en un hospital en la ciudad de Guatemala durante el año 2014, demostró que el 53% de aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* NDM correspondieron al servicio de cuidados intensivos, el 27% a otros servicios de hospitalización y el 20% a Emergencia²⁵ resultados que contrastan con el presente estudio, diferencia que puede deberse al servicio donde se inició el brote.

En un centro hospitalario en el norte de Portugal, Mendes et al. en el 2020 realizaron un estudio en 52 muestras y como resultado detectaron la presencia de 94,2% (49) del gen *bla*NDM en *Klebsiella pneumoniae*. Las muestras pertenecieron a 40 pacientes, el 70% (28) fueron del sexo masculino y el 30% (12) del sexo femenino, rango de edad de los pacientes en estudio fue de 38 a 94 años¹⁸, datos que concuerdan con los hallazgos del presente estudio referente a un porcentaje alto de detección del gen *bla*NDM (98%) en

Klebsiella pneumoniae, porcentaje de muestras portadoras del gen según el sexo que fue de 62% en sexo masculino y el 38% en sexo femenino, el rango de edad de los pacientes se encontró de 30 a más de 60 años.

En el presente trabajo, podemos inferir que el brote de *K. pneumoniae blaNDM* se inició en el servicio de Emergencia donde se atiende a pacientes adultos, debido a que la mayor presencia del gen se encontró en este servicio (26%) y el rango de edad fluctuó entre 30 a más de 60 años, sin embargo, no podemos concluir por que el sexo masculino presentó mayor presencia del gen.

En la alerta epidemiológica de la OPS/OMS en el 2021, recomienda a los estados miembros implementar y fortalecer la vigilancia e investigación epidemiológica, con el fin de detectar e identificar mecanismos de resistencia a los carbapenémicos para implementar acciones de prevención y control de diseminación en establecimientos de salud⁷⁸. El presente estudio aporta información epidemiológica relevante, identificando la presencia de *K. pneumoniae blaNDM*, promoviendo acciones de prevención y control de diseminación de bacterias resistentes a carbapenémicos.

El Ministerio de Salud en marzo del 2022, aprobó la Norma Técnica de Salud N°184 – MINSA/DIGEMID-2022 para la optimización del Programa de Optimización del uso de Antimicrobianos (PROA) a nivel hospitalario, con la finalidad de hacer frente a la resistencia antimicrobiana⁷⁹. Es de vital importancia el uso adecuado y oportuno de antimicrobianos con el propósito de no propiciar resistencia antimicrobiana, reduciendo la morbilidad, mortalidad, estancia hospitalaria y costos hospitalarios

VI. CONCLUSIONES

El 100% (51/51) de las cepas en estudio aisladas de hisopados rectales, fueron identificadas fenotípicamente y confirmadas como *Klebsiella pneumoniae* mediante pruebas bioquímicas para identificación de enterobacterias.

En el perfil de sensibilidad antimicrobiana de las cepas en estudio aisladas de hisopados rectales, se determinó que el 100% (51/51) de las cepas presentaron resistencia a los antibióticos betalactámicos como Amoxicilina/ Ác. Clavulánico (AMC) y Piperacilina/Tazobactam (PTZ), Cefotaxima (CTX), Cefoxitina (FOX), Ceftazidima (CAZ), Cefuroxima (CXM) e incluso a los betalactámicos carbapenémicos como el Ertapenem (ERT), Imipenem (IMP) y Meropenem (MEM).

Se determinó que los servicios que presentaron mayor porcentaje de *Klebsiella pneumoniae blaNDM* aisladas de hisopados rectales y resistentes a carbapenémicos fueron Emergencia (Sala de Observación y Unidad de Cuidados Especiales) con 26% (13/50), seguido del servicio de Medicina Interna con 20% (10/50). De acuerdo a la edad de los pacientes portadores de gen *blaNDM*, se determinó que el mayor porcentaje se encontró entre los 30 a más de 60 años con 72% (36/50). Según el sexo de los pacientes portadores de gen *blaNDM*, la distribución de las cepas en estudio fue de 62% (31/50) sexo masculino y el 38% (19/50) sexo femenino.

Se detectó genotípicamente, que el 98% (50/51) de las cepas en estudio de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a carbapenémicos aisladas de hisopados rectales, portaban el gen *blaNDM*, mediante la técnica molecular de PCR convencional.

VII. RECOMENDACIONES

Se recomienda a los laboratorios de rutina implementar test fenotípicos para detección de bacterias productoras de carbapenemasas eligiendo el método que les brinde mejor costo–beneficio. Asimismo, es importante que los laboratorios hospitalarios de microbiología además de los test fenotípicos, implementen técnicas moleculares de detección de múltiples genes de resistencia, como es el caso del gen NDM que se disemina tanto vertical como horizontalmente, lo que conlleva a su rápida dispersión.

La detección oportuna del gen NDM y otros genes con resistencia antibiótica a carbapenémicos permitirá orientar al clínico la mejor opción de tratamiento, evitando fallas terapéuticas, largas estancias hospitalarias, así como la contención de diseminación bacteriana.

El presente estudio ha logrado alcanzar los objetivos propuestos. Queda abierta la posibilidad que en estudios posteriores se planteen objetivos como el empleo de diferentes metodologías para detección de genes, la presencia de coproducción de genes, así como también determinar las causas que influyen en la mayor presencia del gen en estudio por servicios, edad y sexo.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chinchilla AM, Tomas BE, Morales RD. Detección de carbapenemasas tipo ndm-1 y kpc-2 en enterobacterias blee+: evaluación fenotípica con confirmación genotípica [Tesis de Grado]. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2013.
2. Herrera KM, Vega AR, Moreno GC. *Klebsiella* productora de carbapenemasa en pediatría: revisión de la literatura. Rev Latinoam Infectol Pediátrica. 2017;30(3):107-15.
3. Ariza BE, León AM. Carbapenemasa Nueva Delhi tipo 1 (NDM): descripción fenotípica, epidemiológica y tratamiento. Lab Actual. 2013;(44):24-31.
4. Paciel D, Seija V, Prieto J, Vignoli R, Medina J, Savio E. Enterobacterias productoras de KPC. Tend En Med. Nov. 2011;1-6.
5. Dirección General de Epidemiología. Ministerio de Salud. Boletín Epidemiológico (Lima). Semana Epidemiológica. 17 de agosto de 2014;23(34):667-87.
6. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Fronteras 2017. Nuevos temas de interés ambiental. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. [Internet]. Nairobi; 2017 [accesado 29 de agosto de 2018]. Disponible en: <https://www.unenvironment.org/es/resources/fronteras>
7. Tinoco P. Identificación y validación de marcadores moleculares que permitan diferenciar a *Klebsiella variicola* de *Klebsiella pneumoniae* [Tesis de Grado]. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública; 2011.
8. Espinal PA, Mantilla JR, Saavedra CH, Leal AL, et al. Epidemiología molecular de infección nosocomial por *Klebsiella pneumoniae* productora de beta-lactamasas de espectro extendido. Biomédica 2004;24:252-261.
9. Correa C, Castro E, Salamanca D, Bustacara L, et al. *Escherichia coli* productora de Nueva Delhi metalo- β -lactamasa en Colombia: reporte de caso. Infectio 2016. doi:10.22354/in.v21i2.658.
10. López DP, Torres MI, Prada CF. Genes de resistencia en bacilos Gram negativos: Impacto en la salud pública en Colombia. Univ Salud. 2016;18(1):190-202.
11. Organización Panamericana de la Salud. Alerta Epidemiológica: Primer hallazgo de carbapenemasas de tipo New Delhi metalobetalactamasas (NDM) en Latinoamérica. [Internet]. 2011 nov p. 5. [accesado 28 de agosto de 2018] Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2012/22-noviembre-2011-carbapenemasas-americas1.pdf>
12. Struelens M, Monnet D, Magiorakos A, Santos O'Connor F, Giesecke J, The European NDM-1 Survey Participants C. New Delhi metallo-beta-lactamase 1-producing Enterobacteriaceae: emergence and response in Europe. [Internet]. Eurosurveillance .2010 [accesado 25 de julio de 2022];15(46). Disponible en: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/ese.15.46.19716-en>

13. Sidjabat H, Nimmo GR, Walsh TR, Binotto E, Htin A, Hayashi Y, et al. Carbapenem Resistance in *Klebsiella pneumoniae* Due to the New Delhi Metallo- β -lactamase. *Clin Infect Dis*. 2011;52(4):481-4.
14. Mulvey MR, Grant JM, Plewes K, Roscoe D, Boyd DA. New Delhi Metallo- β -Lactamase in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*, Canada. *Emerg Infect Dis*.2011;17(1):103-6.
15. Brink AJ, Coetzee J, Clay CG, Sithole S, Richards GA, Poirel L, et al. Emergence of New Delhi Metallo-Beta-Lactamase (NDM-1) and *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC-2) in South Africa. *J Clin Microbiol*. 2012;50(2):525-7.
16. Politi L, Gartzonika K, Spanakis N, Zarkotou O, Poulou A, Skoura L, et al. Emergence of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece: evidence of a widespread clonal outbreak. *J Antimicrob Chemother*.2019;74(8):2197-202.
17. Dong F, Zhang Y, Yao K, Lu J, Guo L, Lyu S, et al. Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Infections in a Chinese Children's Hospital: Predominance of New Delhi Metallo- β -Lactamase-1. *Microb Drug Resist*.2018;24(2):154-60.
18. Mendes G, Ramalho J, Duarte A, Pedrosa A, Silva A, Méndez L, et al. First Outbreak of NDM-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* ST11 in a Portuguese Hospital Centre during the COVID-19 Pandemic. *Microorganisms*. 2022;10(2):251. doi:10.3390/microorganisms10020251
19. Morejón M. Carbapenemasas, una amenaza actual. *Rev Cuba Med Intensiva Emerg*. 2012;11(4):2613-8.
20. Resurrección C, Montenegro JJ, Chiappe A, Vargas R, Cucho C, Mamani DH, et al. *Klebsiella pneumoniae* Nueva Delhi Metallo-beta-lactamasa en el hospital nacional Dos de Mayo. Lima, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2017; 34(2):261.
21. Dirección General de Vigilancia de la Salud. Primer hallazgo de Metalobetalactamasa. New Delhi (NDM) en Paraguay. [Internet]. 2012. [accesado 29 de agosto de 2018] Disponible en: <https://www.msps.gov.py/dependencias/imt/uploads/Documento/alerta6.pdf>
22. Escobar Pérez JA, Olarte Escobar NM, Castro-Cardozo B, Valderrama Márquez IA, Garzón Aguilar MI, Martínez de la Barrera L, et al. Outbreak of NDM-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* in a Neonatal Unit in Colombia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(4):1957-60.
23. INEI-ANLIS Malbrán. Alerta Epidemiológico: Emergencia de Carbapenemasa tipo NDM. *Boletín Inf*. [Internet]. 2013 [accesado 28 de agosto de 2018]; (3):6. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2013/07/Alerta-epidemiologica-NDM-Arg-v11.pdf>
24. Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud, Centro Nacional de Referencia de Bacteriología. Informe de vigilancia basada en laboratorio: Segundo caso importado de infección por enterobacteria carbapenemasa tipo Metalobetalactamasa New Delhi (MBL-NDM) positiva en Costa Rica, 2014.

- [Internet]. Costa Rica; p. 3. [accesado 28 de agosto de 2018] Disponible en: https://www.inciensa.sa.cr/vigilancia_epidemiologica/informes_vigilancia/Otros_PDFs/Segundo%20caso%20enterobacteria%20carbapenemasa%20tipo%20Metalobatelacta.pdf
25. Velásquez Porta TI. Detección de los genes de carbapenemasas *blaKPC* y *blaNDM* en aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* del Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala [Trabajo de Grado - Maestría]. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia; 2016.
 26. Sacsquispe-Contreras R, Bailón-Calderón H. Identificación de genes de resistencia a carbapenémicos en enterobacterias de hospitales de Perú, 2013-2017. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*.2018;35(2):259-264.
 27. Arbizú Medina O, García Rosales K, Cerda Aragón H, Martínez García W, Pérez Martínez A, Lanzas Baca Y. Nueva Delhi metalo- β lactamasa en especies de Enterobacteriaceae aisladas de pacientes hospitalizados, Managua, Nicaragua. *Acta Médica Costarric*. [Internet]. 2020, [accesado 11 de febrero de 2022];60(2). Disponible en: http://actamedica.medicos.cr/index.php/Acta_Medica/article/view/998
 28. Requena D, Vásquez Y, Gil A, Cedeño J, Chabin M, Delgado E, et al. Detección fenotípica y genotípica de la producción de carbapenemasas tipo NDM-1 y KPC en enterobacterias aisladas en un laboratorio clínico en Maracay, Venezuela. *Rev Chil Infectol*.2021;38(2):197-203.
 29. Organización Mundial de la Salud. Datos recientes revelan los altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo. [Internet]. WHO. 2018 [accesado 29 de agosto de 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistance-found/es/>
 30. Mora Guzmán I. Epidemiología y factores de riesgo de infecciones por enterobacterias productoras de carbapenemasas en cirugía general. [Tesis Doctoral]. Madrid, España: Universidad Autónoma de Madrid, Facultad de Medicina; 2020.
 31. Negroni M. Microbiología Estomatológica: fundamentos y guía práctica. 2.^a ed. Buenos Aires, Argentina: Ed. Médica Panamericana; 2009. 660 p.
 32. Moreno K. Carbapenémicos: Tipos y mecanismos de resistencia bacterianos. *Rev Médica Costa Rica Centroamérica*. 2013;70(608):599-605.
 33. Gonzales E. Metallo- β -lactamasas: ¿el fin de los β -lactámicos? *Rev Peru Epidemiol*. [Internet]. 2012; [accesado 28 de agosto de 2018] 16(3):8. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/epidemiologia/v16_n3/pdf/a02v16n3.pdf
 34. Astocondor-Salazar L. Betalactamasas: la evolución del problema. *Rev Peru Investig En Salud*. 2018;2(2):42-9.
 35. Palacios AR. Estudio del mecanismo de reacción y reconocimiento de sustrato de la metalo- β -lactamasa NDM-1 [Tesis Doctoral]. Rosario, Argentina: Universidad Nacional de Rosario. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas; 2018.

36. Rada AM, Hernández-Gómez C, Restrepo E, Villegas MV. Distribución y caracterización molecular de betalactamasas en bacterias Gram negativas en Colombia, 2001-2016. *Biomédica*.2019;39:199-220.
37. Tártara SG. Patógenos Emergentes – Tercera Parte “*Klebsiella Pneumoniae* Productora de Carbapenemasas (KPN- KPC)”. *Rev Nefrol Dial Traspl*. 2013;33(2):103-109.
38. Izquierdo Lázaro L. Biosíntesis del lipopolisacárido de «*Klebsiella Pneumoniae*» . [Tesis doctoral] Barcelona: Universidad de Barcelona. 2003.
39. Padilla Chumacero M. *Klebsiella Pneumoniae*: aislamiento, identificación y resistencia a los antimicrobianos hospital «Jaime Mendoza». C.N.S. Sucre. 2012. *Arch Boliv Med*. 2013;19(87):27.
40. Jiménez de Anta Losada MT. A propósito de tres brotes producidos por *Klebsiella Oxytoca*. *An Med Cir*. 1978;58(252):77-98.
41. Lopardo HA, Predari SC, Vay C. Bacterias de Importancia Clínica. *Man Microbiol Clínica Buenos Aires, Argentina: Asociación Argentina de Microbiología*; 2016. I:429.
42. Cubero González M. Epidemiología molecular, factores de virulencia y caracterización de los mecanismos de resistencia de *Klebsiella pneumoniae*. [Tesis doctoral]. Barcelona: Universitat de Barcelona; 2016.
43. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos bacteriológicos en infecciones intrahospitalarias. (Serie de Normas Técnicas). N°28. Lima: INS; 2005.
44. Parra Vera H. Resistencia a carbapenémicos en *Klebsiella pneumoniae*, protocolo de detección precoz [Tesis]. Guayaquil: Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Médicas. Escuela de Graduados; 2016.
45. Linzitto OR, Tunes M del L. Revisión sobre bacterias gram negativas de importancia clínica. *Rev Enfermedades Infecc Emerg REIE*. [Internet]. 2019 [accesado 13 de febrero de 2022];13. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/90195>
46. Toro L, Correa J. *Klebsiella pneumoniae* como patógeno intrahospitalario: epidemiología y resistencia. *Revista Médica Iatreia* 2010;23(3):10.
47. Daza A. Mecanismos de Resistencia a Antibióticos de Microorganismos Patógenos de Prioridad 1 [Trabajo de fin de grado]. Madrid, España: Universidad Complutense. Facultad de Farmacia; 2019.
48. World Health Organization. Global Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria to Guide Research, Discovery, and Development of New Antibiotics. [Internet]. WHO; 2017. [accesado 12 de febrero de 2022]. Disponible en: <https://www.doherty.edu.au/news-events/news/who-global-priority-pathogens-list-of-antibiotic-resistant-bacteria>
49. Chávez Colcha AC. Prevalencia de *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenémicos en aislamientos de muestras clínicas de pacientes ingresados en la

- UCI Hospital Nacional de Especialidades. Dr. Abel Gilberth Pontón [Tesis]. Guayaquil: Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Médicas. Escuela de Graduados; 2016.
50. Sierra Atanacio EG. Tipificación de aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* por la técnica de Multilocus Sequence Typing. [Tesis de grado]. Ciudad de México: Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas; 2018.
 51. Bocanegra P. Caracterización de un brote hospitalario de enterobacterias resistentes a carbapenémicos [Tesis Doctoral]. Monterrey: Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas; 2017.
 52. Troncoso C, Pavez M, Santos A, Salazar R, Barrientos L. Implicancias Estructurales y Fisiológicas de la Célula Bacteriana en los Mecanismos de Resistencia Antibiótica. *Int J Morphol.* 2017;35(4):1214-23.
 53. Portilla Rincón NA. Efecto de bacteriófagos en el control de biopelículas de *Klebsiella pneumoniae* productoras de Carbapenemasas (KPC). [Tesis de grado]. Bogotá: Universidad Los Andes. 2019.
 54. Bahr G. Estudio de la metalo-beta-lactamasa anclada a membrana NDM-1 y análisis de su evolución clínica [Tesis Doctoral]. Rosario. Argentina: Universidad Nacional de Rosario; 2018.
 55. Medina Bermúdez CG, Muñoz Gutiérrez J de los Á, Ortega Selva RR. Prevalencia del gen *bla*NDM en *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, aislados de procesos infecciosos en paciente del Hospital Antonio Lenin Fonseca de la ciudad de Managua en el periodo de Junio a Octubre–2017 [Tesis Licenciatura en Bioanálisis Clínico]. Managua: Universidad Autónoma de Nicaragua; 2017.
 56. De la Fuente-Salcido N, Villarreal-Prieto J, Díaz León M, García Pérez A. Evaluación de la actividad de los agentes antimicrobianos ante el desafío de la resistencia bacteriana. *Rev Mex Cienc Farm* 2015;46(2):7-16.
 57. Gómez J, Garcia-Vazquez E, Hernandez-Torres A. Los betalactámicos en la clínica práctica. *Rev Esp Quimioter.* 2015;28(1):1-9.
 58. Moncada MV. Caracterización molecular de aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* portadores del gen *bla*NDM-1 procedentes de una unidad neonatal en un hospital de Bogotá [Trabajo de Grado - Maestría]. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional De Colombia. Facultad de Ciencias. Posgrado de Interfacultades de Microbiología; 2014.
 59. De Pourcq JT, Fernández de Gamarra Martínez E, Feliu Ribera A. ¿Qué aporta el Doripenem al grupo de los Carbapenems? *Butlletí Inf Ter.* 2011;22(4):19-24.
 60. Jiménez Pearson MA, Galas M, Corso A, Hormazábal JC, Duarte Valderrama C, Salgado Marcano N, et al. Consenso latinoamericano para definir, categorizar y notificar patógenos multirresistentes, con resistencia extendida o panresistentes. *Rev Panam Salud Pública* 2019;43:e65. doi:10.26633/RPSP.2019.65

61. Aguayo A, Mella S, Riedel G, Bello H, Domínguez M, González-Rocha G. Colistín en la era post-antibiótica. *Rev Chil Infectol.* 2016;33(2):166-76.
62. Martínez Martínez L. Mecanismos de resistencia a los antimicrobianos. *Rev Med Valdecilla* 2016; 1(1): 7-16.
63. Cabezas Galán A. *Klebsiella Pneumoniae* Multirresistente: Un problema de salud pública. Estudio de su presencia en el hospital general universitario de Alicante. [Trabajo de fin de grado]. Alicante. España: Universidad de Alicante. Facultad de Ciencias.; 2016.
64. Villa García J. Análisis genómico de Enterobacterales productores de carbapenemasas de interés clínico en el Hospital Universitario 12 de Octubre. [Tesis Doctoral]. Madrid, España: Universidad Autónoma de Madrid. Facultad de Medicina; 2020.
65. Calderón Rojas G, Aguilar Ulate L. Resistencia antimicrobiana: microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad. *Rev Médica Costa Rica Centroamérica.* 2016;LXXIII(621):7.
66. Tafur JD, Torres JA, Villegas MV. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. 2008;(3):11.
67. Gonzalez M. Estrategias de *Klebsiella pneumoniae* para subvertir los sistemas defensivos del huésped. [Tesis Doctoral]. Palma, España: Universitat de les Illes Balears; 2021.
68. Tsai Y-K, Fung C-P, Lin J-C, Chen J-H, Chang F-Y, Chen T-L, et al. *Klebsiella pneumoniae* Outer Membrane Porins OmpK35 and OmpK36 Play Roles in both Antimicrobial Resistance and Virulence. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(4):1485-93.
69. Castañeda J, Gómez K, Corrales L, Cortés S. Perfil de resistencia a antibióticos en bacterias que presentan la enzima NDM-1 y sus mecanismos asociados: una revisión sistemática. *Nova.* 2016;14(25):95.
70. Jandrey da Rosa T, Biegelmeier S, Spellmeier Lange T, Beck Bittencourt SE, Ulrich Picoli S. Metallobetalactamase New Delhi: A Review. *Rev Bras Análisis Clínicas.* 2017;49(1). doi:10.21877/2448-3877.201600268
71. CLSI. CLSI Boletín de Noticias. [Internet]. [accesado 13 de febrero de 2022]. 2017; 2 (1). Pág. 8-9. Disponible en: https://clsi.org/media/1869/ast_newsletter_sp3.pdf
72. Yauri Condor KS. Desempeño de cinco métodos fenotípicos para la detección de metallobetalactamasas en bacilos gram negativos tipificados genotípicamente. [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Medicina. E.A.P. de Tecnología Médica.; 2016.
73. ANLIS Dr. Carlos G. Malbran. Protocolo de PCR para la detección del gen NDM en aislamientos de bacilos gram-negativos. Antimicrobianos. [Internet]. [accesado 20 de febrero de 2022]. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2021/01/Detecci%C3%B3n-NDM2.pdf>

74. Salvador Luján GN. Identificación de genes de Metalo β -lactamasas en *Pseudomonas aeruginosa* de aislados clínicos hospitalarios 2016. [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.
75. Saavedra SY, Duarte C, González MN, Realpe ME. Caracterización de aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* productores de carbapenemasas de siete departamentos de Colombia. *Biomédica*.2014;34(0):217.
76. Reyes-Chacón JA, Villacís-Acuña JE, Chicaiza-Alomoto S, Satán-Salazar C, Salas-Iglesias S, Ushiña-Cueva L, et al. Inactivación del carbapenémico, un método alternativo para detectar carbapenemasa tipo KPC en Enterobacteriaceae. *Infectio*. [Internet]. 2017 [accesado 11 de febrero de 2022];21(4). Disponible en: <http://www.revistainfectio.org/index.php/infectio/article/view/688>
77. Yu B, Dong D, Wang M, Guo Y, Yin D, Hu F. Evaluation of modified carbapenem inactivation method for suspected carbapenemase among *Enterobacteriaceae* clinical isolates. *Oncotarget*. 2018;9(49):29233-7.
78. Organización Mundial de la Salud, Organización Panamericana de la Salud. Alerta Epidemiológica: Emergencia e incremento de nuevas combinaciones de carbapenemasas en Enterobacteriales en Latinoamérica y el Caribe. [Internet]. 2021 [accesado 26 de julio de 2022]. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/55319?locale-attribute=es>
79. Ministerio de Salud. NTS 184-MINSA/DIGEMID-2022, Norma Técnica de Salud para la Implementación del Programa de Optimización del Uso de Antimicrobianos a nivel hospitalario. [Internet]. 2022 [accesado 7 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/2793136-170-2022-minsa>

IX. ANEXOS

Anexo 1. Resultados del Perfil de sensibilidad antimicrobiana de las cepas en estudio de *Klebsiella pneumoniae* aisladas de hisopados rectales.

N°	AMK		AMC		CTX		FOX		CAZ		CXM		CIP		ERT	
	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT
1	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
2	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
3	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
4	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
5	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
6	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
7	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
8	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
9	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
10	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
11	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
12	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
13	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
14	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
15	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	<=0.5	S	>1	R
16	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R

N°	AMK		AMC		CTX		FOX		CAZ		CXM		CIP		ERT	
	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT
17	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
18	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	2	I	>1	R
19	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
20	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
21	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
22	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
23	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
24	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
25	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	2	I	>1	R
26	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
27	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
28	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
29	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
30	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
31	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
32	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
33	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
34	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	2	I	>1	R
35	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
36	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	2	I	>1	R

N°	AMK		AMC		CTX		FOX		CAZ		CXM		CIP		ERT	
	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT
37	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
38	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
39	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	2	I	>1	R
40	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
41	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
42	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
43	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	2	I	>1	R
44	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
45	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	2	I	>1	R
46	<=8	S	>16/8	R	>16	R	16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
47	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
48	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	2	R	>1	R
49	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	2	R	>1	R
50	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R
51	<=8	S	>16/8	R	>16	R	>16	R	>16	R	>16	R	>2	R	>1	R

* N°: Número de muestra adaptado para el estudio; CIM: concentración inhibitoria mínima mcg/mL; Int: interpretación; S: sensible; I: intermedio; R: resistente; AMK: Amikacina; AMC: Amoxicilina / Ácido Clavulánico; CTX: Cefotaxima; FOX: Cefoxitina; CAZ: Ceftazidima; CXM: Cefuroxima; CIP: Ciprofloxacina; ERT: Ertapenem.

Continuación Anexo 1.

N°	FOS		GEN		IMP		LVX		MEM		PTZ		TOB		SXT	
	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT
1	<=32	S	>8	R	4	R	4	I	8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
2	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
3	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
4	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
5	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
6	<=32	S	>8	R	4	R	2	S	8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
7	<=32	S	>8	R	4	R	<=1	S	4	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
8	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
9	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
10	>64	R	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
11	<=32	S	>8	R	4	R	<=1	S	4	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
12	<=32	S	>8	R	4	R	<=1	S	8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
13	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
14	<=32	S	>8	R	>8	R	4	I	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
15	<=32	S	>8	R	4	R	<=1	S	4	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
16	<=32	S	>8	R	4	R	<=1	S	4	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
17	64	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
18	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	4	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
19	<=32	S	>8	R	4	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R

N°	FOS		GEN		IMP		LVX		MEM		PTZ		TOB		SXT	
	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT
20	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
21	<=32	S	>8	R	8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
22	<=32	S	>8	R	4	R	<=1	S	8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
23	<=32	S	>8	R	8	R	4	I	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
24	<=32	S	>8	R	8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
25	<=32	S	>8	R	8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
26	<=32	S	>8	R	8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
27	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
28	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
29	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
30	<=32	S	>8	R	>8	R	4	I	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
31	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
32	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
33	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
34	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
35	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
36	<=32	S	>8	R	8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
37	<=32	S	>8	R	>8	R	2	S	>8	R	>64	R	>8	R	<=2/38	S
38	<=32	S	>8	R	8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
39	<=32	S	>8	R	8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R

N°	FOS		GEN		IMP		LVX		MEM		PTZ		TOB		SXT	
	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT	CIM	INT
40	<=32	S	>8	R	8	R	<=1	S	8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
41	<=32	S	>8	R	4	R	<=1	S	8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
42	<=32	S	>8	R	4	R	<=1	S	4	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
43	<=32	S	>8	R	4	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
44	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
45	64	S	>8	R	4	R	<=1	S	8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
46	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
47	64	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
48	<=32	S	>8	R	>8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
49	<=32	S	>8	R	8	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
50	<=32	S	>8	R	4	R	<=1	S	4	R	>64	R	>8	R	>4/76	R
51	<=32	S	>8	R	4	R	<=1	S	>8	R	>64	R	>8	R	>4/76	R

* N°: Número de muestra adaptado para el estudio; CIM: concentración inhibitoria mínima mcg/mL; Int: interpretación; S: sensible; I: intermedio; R: resistente; FOS: Fosfomicina; GEN: Gentamicina; IMP: Imipenem; LVX: Levofloxacina; MEM: Meropenem; PTZ: Piperacilina / Taxobactam; TOB: Tobramicina; SXT: Trimetoprima / Sulfametoxazol.

Anexo 2. Resultados de las pruebas bioquímicas utilizadas para la identificación de *Klebsiella pneumoniae* en las 51 cepas estudiadas.

Nº	Agar TSI			Agar LIA		Agar Citrato de Simmons		Agar SIM			Agar Urea
	Superficie/Fondo	Producción de gas	Producción de H ₂ S	Superficie/Fondo	Producción de H ₂ S	Crecimiento	Color del medio	Movilidad	Indol	Producción de H ₂ S	Color del medio
1	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
2	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
3	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
4	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
5	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
6	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
7	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
8	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
9	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
10	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
11	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
12	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
13	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
14	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
15	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
16	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
17	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
18	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
19	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
20	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
21	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo

Nº	Agar TSI			Agar LIA		Agar Citrato de Simmons		Agar SIM			Agar Urea
	Superficie/Fondo	Producción de gas	Producción de H ₂ S	Superficie/Fondo	Producción de H ₂ S	Crecimiento	Color del medio	Movilidad	Indol	Producción de H ₂ S	Color del medio
22	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
23	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
24	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
25	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
26	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
27	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
28	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
29	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
30	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
31	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
32	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
33	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
34	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
35	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
36	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
37	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
38	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
39	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
40	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
41	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
42	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
43	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo

Nº	Agar TSI			Agar LIA		Agar Citrato de Simmons	Agar SIM			Agar Urea	
	Superficie/Fondo	Producción de gas	Producción de H ₂ S	Superficie/Fondo	Producción de H ₂ S	Crecimiento	Color del medio	Movilidad	Indol	Producción de H ₂ S	Color del medio
44	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
45	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
46	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
47	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
48	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
49	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
50	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo
51	A/A	+	-	K/K	-	+	Azul	-	-	-	rosado-rojizo

Interpretación: N°: Número de muestra adaptado para el estudio; el numerador (parte aerobia) corresponde a la superficie del medio corresponde, el denominador corresponde al fondo del medio (parte anaerobia): S/F, A/A (superficie ácida/fondo ácido), K/K (superficie alcalina/fondo alcalino);
 +: Positivo, -: Negativo; H₂S: Sulfuro de Hidrógeno.

Anexo 3. Características epidemiológicas y genotipo de las cepas clínicas de *Klebsiella pneumoniae* aisladas de hisopados rectales.

N°	F. MUESTRA	SEXO	EDAD	SERVICIO	GENOTIPO <i>bla</i> NDM
1	8/03/2018	M	62	MEDICINA INTERNA	POSITIVO
2	14/03/2018	M	5	HEMATOLOGÍA CLÍNICA	POSITIVO
3	14/03/2018	M	90	U. CUIDADOS ESPECIALES - EMERGENCIA	POSITIVO
4	14/03/2018	F	12	HEMATOLOGÍA CLÍNICA	POSITIVO
5	14/03/2018	F	49	U. CUIDADOS ESPECIALES - EMERGENCIA	POSITIVO
6	14/03/2018	M	59	U. CUIDADOS ESPECIALES - EMERGENCIA	POSITIVO
7	14/03/2018	M	62	U. CUIDADOS ESPECIALES - EMERGENCIA	POSITIVO
8	14/03/2018	F	62	U. CUIDADOS ESPECIALES - EMERGENCIA	POSITIVO
9	14/03/2018	F	53	CIRUGIA GENERAL	POSITIVO
10	15/03/2018	F	29	U. CUIDADOS ESPECIALES - EMERGENCIA	POSITIVO
11	15/03/2018	F	83	CIRUGIA GENERAL	POSITIVO
12	15/03/2018	F	2	CUIDADOS INTENSIVOS	POSITIVO
13	15/03/2018	M	14	ONCOLOGIA	POSITIVO
14	17/03/2018	M	84	CIRUGIA CABEZA Y CUELLO	POSITIVO
15	17/03/2018	F	4	HEMATOLOGÍA CLÍNICA	POSITIVO
16	23/03/2018	M	48	MEDICINA INTERNA	POSITIVO
17	23/03/2018	M	71	MEDICINA INTERNA	POSITIVO
18	23/03/2018	M	75	CUIDADOS INTENSIVOS	POSITIVO
19	9/04/2018	F	67	HEMATOLOGÍA CLÍNICA	POSITIVO
20	9/04/2018	F	25	HEMATOLOGÍA CLÍNICA	POSITIVO
21	9/04/2018	M	86	CUIDADOS INTENSIVOS	POSITIVO
22	9/04/2018	F	6	CUIDADOS INTERMEDIOS	POSITIVO
23	9/04/2018	M	1	CUIDADOS INTERMEDIOS	POSITIVO
24	9/04/2018	M	8	CUIDADOS INTERMEDIOS	POSITIVO
25	9/04/2018	M	4	CUIDADOS INTERMEDIOS	POSITIVO
26	9/04/2018	M	61	MEDICINA INTERNA	POSITIVO

N°	F. MUESTRA	SEXO	EDAD	SERVICIO	GENOTIPO <i>bla</i> NDM
27	9/04/2018	M	74	MEDICINA INTERNA	POSITIVO
28	10/04/2018	M	7	CUIDADOS INTERMEDIOS	POSITIVO
29	10/04/2018	M	58	CUIDADOS INTERMEDIOS	POSITIVO
30	10/04/2018	F	22	NEUROLOGIA	POSITIVO
31	10/04/2018	F	42	GASTROENTEROLOGIA	POSITIVO
32	10/04/2018	M	47	MEDICINA INTERNA	POSITIVO
33	10/04/2018	M	87	U. CUIDADOS ESPECIALES - EMERGENCIA	POSITIVO
34	16/04/2018	M	80	NEUROLOGIA	POSITIVO
35	16/04/2018	M	77	SALA DE OBSERVACIÓN - EMERGENCIA	POSITIVO
36	18/04/2018	F	81	CIRUGIA CABEZA Y CUELLO	POSITIVO
37	18/04/2018	M	53	MEDICINA INTERNA	POSITIVO
38	18/04/2018	M	50	CUIDADOS INTERMEDIOS	POSITIVO
39	18/04/2018	F	75	GASTROENTEROLOGIA	POSITIVO
40	28/04/2018	F	79	MEDICINA INTERNA	POSITIVO
41	30/04/2018	F	82	MEDICINA INTERNA	POSITIVO
42	30/04/2018	F	67	MEDICINA INTERNA	POSITIVO
43	3/05/2018	F	9	CIRUGIA PLASTIC, QUEMAD	POSITIVO
44	10/05/2018	M	86	SALA DE OBSERVACIÓN - EMERGENCIA	POSITIVO
45	12/05/2018	M	88	SALA DE OBSERVACIÓN - EMERGENCIA	POSITIVO
46	12/05/2018	M	75	SALA DE OBSERVACIÓN - EMERGENCIA	POSITIVO
47	12/05/2018	M	46	SALA DE OBSERVACIÓN - EMERGENCIA	POSITIVO
48	12/05/2018	F	22	MEDICINA INTERNA	NEGATIVO
49	12/05/2018	M	58	CIRUGIA GENERAL	POSITIVO
50	18/05/2018	M	89	GERIATRIA	POSITIVO
51	18/05/2018	M	65	SALA DE OBSERVACIÓN - EMERGENCIA	POSITIVO

* N°: Número de muestra adaptado para el estudio; F. Muestra: fecha de muestra; F: Femenino, M: Masculino; POSITIVO: presencia de gen *bla*NDM; NEGATIVO: ausencia de gen *bla*NDM.

Anexo 4. Operacionalización de variables

VARIABLE	CONCEPTUAL	OPERACIONAL	INDICADOR	ESCALA
VARIABLE INDEPENDIENTE: Cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i> resistentes a carbapenémicos.	Identificación de <i>Klebsiella pneumoniae</i> resistente a carbapenémicos en hisopados rectales.	Sensibilidad antibiótica	Sensibilidad de la bacteria frente a un determinado tratamiento antibiótico.	Método automatizado Walk-Away.
		Resistencia antibiótica	Propiedad de la bacteria de no inhibir su crecimiento frente a un determinado tratamiento antibiótico.	Pruebas fenotípicas de detección de carbapenemasas: -Test de inhibición de carbapenémicos. -Test de sinergia de doble disco con EDTA para metalobetalactamasas.
VARIABLE DEPENDIENTE: Presencia Gen <i>bla</i> NDM	Detección del Gen <i>bla</i> NDM	Carbapenemasa	Capacidad de hidrolizar antibióticos carbapenémicos.	Detección genotípica se utilizará el Protocolo de PCR.

Anexo 5. Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	VARIABLES	TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS
<p>¿Se detectará la presencia de Carbapenemasas tipo <i>bla</i>NDM en <i>Klebsiella pneumoniae</i> aisladas en muestras de hisopados rectales en un Hospital Nacional, nivel IV. Lima, Perú?</p>	<p>Objetivo general: Detectar la presencia de Carbapenemasas tipo <i>bla</i>NDM en <i>Klebsiella pneumoniae</i> aisladas en muestras de hisopados rectales en el Hospital Nacional nivel IV. Lima, Perú. En un periodo de tiempo de marzo 2018 a mayo 2018.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ol style="list-style-type: none"> Identificar fenotípicamente y confirmar que las cepas aisladas de hisopados rectales corresponden a <i>Klebsiella pneumoniae</i>. Determinar el perfil de sensibilidad antimicrobiana de cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aisladas de hisopados rectales. Determinar la presencia de Carbapenemasas tipo <i>bla</i>NDM en cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aisladas de hisopados rectales resistentes a carbapenémicos según servicio de hospitalización, edad y sexo. 	<ul style="list-style-type: none"> - Independiente: Cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i> resistente a carbapenémicos - Dependiente: Detectar presencia Gen <i>bla</i>NDM. 	<ul style="list-style-type: none"> - Se utilizarán fichas de registros de datos. - Observación de resultados. - Tabulación de resultados.