



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Farmacia y Bioquímica**

**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

**Prevalencia de la bomba de eflujo AcrAB en cepas  
clínicas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a  
antimicrobianos aisladas de pacientes hospitalizados  
con diagnóstico de neumonía durante 2019-2020**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutica

**AUTOR**

Deysi Janeth AGUILAR LUIS

**ASESORES**

Dra. María Elena SALAZAR SALVATIERRA

Dra. Juana Mercedes DEL VALLE MENDOZA (Coasesora)

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

---

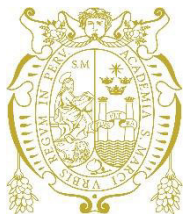
Aguilar D. Prevalencia de la bomba de eflujo AcrAB en cepas clínicas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a antimicrobianos aisladas de pacientes hospitalizados con diagnóstico de neumonía durante 2019-2020 [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2022.

---

## Metadatos complementarios

<b>Datos de autor</b>	
Nombres y apellidos	Deysi Janeth Aguilar Luis
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	71249111
URL de ORCID	<a href="https://orcid.org/0000-0001-8193-7257">https://orcid.org/0000-0001-8193-7257</a>
<b>Datos de asesor</b>	
Nombres y apellidos	María Elena Salazar Salvatierra
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	08675623
URL de ORCID	<a href="https://orcid.org/0000-0002-5661-4752">https://orcid.org/0000-0002-5661-4752</a>
<b>Datos de coasesor</b>	
Nombres y apellidos	Juana Mercedes Del Valle Mendoza
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	09801595
URL de ORCID	<a href="https://orcid.org/0000-0002-6011-5040">https://orcid.org/0000-0002-6011-5040</a>
<b>Datos del jurado</b>	
<b>Presidente del jurado</b>	
Nombres y apellidos	Víctor Crispín Pérez
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07363013
<b>Miembro del jurado 1</b>	
Nombres y apellidos	Ana María Virginia Chávez Fernández
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07514130

<b>Miembro del jurado 2</b>	
Nombres y apellidos	Julio Reynaldo Ruiz Quiroz
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07760326
<b>Miembro del jurado 3</b>	
Nombres y apellidos	Gustavo Antonio Guerra Brizuela
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08462723
<b>Datos de investigación</b>	
Línea de investigación	Microbiología.
Grupo de investigación	Laboratorio de Biología Molecular, IIN-UPC.
Agencia de financiamiento	SIN FINANCIAMIENTO.
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: La Victoria Calle: Jr. García Naranjo 840 Latitud: -12.058427 Longitud: -77.022541
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2021 - 2022
URL de disciplinas OCDE	Biología celular, Microbiología <a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.014">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.014</a> Bioquímica, Biología molecular <a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.03">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.03</a>



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
Universidad del Perú. Decana de América  
**Facultad de Farmacia y Bioquímica**  
**Decanato**



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

**Prevalencia de la bomba de eflujo AcrAB en cepas clínicas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a antimicrobianos aisladas de pacientes hospitalizados con diagnóstico de neumonía durante 2019-2020**

Que presenta la Bachiller en Farmacia y Bioquímica:

**DEYSI JANETH AGUILAR LUIS**

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, ha obtenido la siguiente calificación final:

**DIECINUEVE (19) APROBADO CON MÁXIMOS HONORES**

de conformidad con el Art. 14.º del Reglamento General de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para la obtención del Título Profesional de Químico Farmacéutico (a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

**JURADO EXAMINADOR Y CALIFICADOR** (R.D. N.º 000800-2022-D-FFB/UNMSM)

- Dr. Víctor Crispín Pérez
- Dra. Ana María Virginia Chávez Fernández
- Dr. Julio Reynaldo Ruiz Quiroz
- Mg. Gustavo Antonio Guerra Brizuela

Lima, 14 de diciembre de 2022

**Dr. Víctor Crispín Pérez**  
**Presidente**

**"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"**



## INFORME DE EVALUACIÓN DE CRITERIOS DE ORIGINALIDAD

1	Facultad	FARMACIA Y BIOQUÍMICA
2	Escuela	FARMACIA Y BIOQUÍMICA
3	Autoridad que emite el informe de originalidad	Director de la Escuela Profesional
4	Apellidos y nombres de la autoridad académica	Luis Miguel V. Felix Veliz
5	Operador del programa informático de similitudes	Luis Miguel V. Felix Veliz
6	Documento evaluado	Tesis para optar al título profesional de Químico Farmacéutico: Prevalencia de la bomba de eflujo AcrAB en cepas clínicas de <i>Klebsiella pneumoniae</i> resistentes a antimicrobianos aisladas de pacientes hospitalizados con diagnóstico de neumonía durante 2019-2020.
7	Autor(es) del documento	Br. Aguilar Luis Deysi Janeth
8	Fecha de recepción del documento	05/12/2022
9	Fecha de aplicación del programa informático de similitudes	05/12/2022
10	Software utilizado	Turnitin
11	Configuración del programa detector de similitudes	Excluye: - Textos entrecomillados - Bibliografía - Cadenas menores de 40 palabras
12	Porcentaje de similitud según programa detector de similitudes	5 % (El % de similitud debe ser $\leq$ 10%)
13	Fuentes originales de las similitudes encontradas	<ul style="list-style-type: none"><li>• Fuentes de internet varias 4 %</li><li>• Publicaciones 1 %</li><li>• Trabajo de estudiantes entregados a otras universidades 1 %</li></ul>
14	Observaciones	Realizar la edición final de la tesis. Procede la sustentación.
15	Calificación de originalidad	Documento cumple con los criterios de originalidad.
16	Fecha del informe	05/12/2022

Nota: se adjunta archivo de reporte del sistema Turnitin en el que se resaltan las similitudes detectadas.



UNMSM

Firmado digitalmente por FELIX  
VELIZ Luis Miguel Visitacion FAU  
20148092282 soft  
Motivo: Soy el autor del documento  
Fecha: 05.12.2022 09:45:19 -05:00

-----  
Dr. Luis Miguel V. Felix Veliz

## **DEDICATORIA**

Agradezco a mis padres, Santos y Eleuteria, por su apoyo incondicional y compañía al cumplir cada objetivo en mi vida, este logro es para ustedes con todo mi amor. A mis hermanos, Diana y Miguel, que fueron un ejemplo a seguir y siempre estuvieron ahí para apoyarme y orientarme en cada etapa de mi vida, les agradezco todo lo que hicieron y hacen por mí, los amo. A mi hermanita Valerie que es mi motor y motivo para seguir adelante, gracias por alegrar mis días y sacarme una sonrisa siempre, te amo con todo mi corazón. A mi abuelita Isabel que me brindó todo su amor y cariño, gracias por cuidar de mí y apoyarme en todo momento.



## **AGRADECIMIENTOS**

Doy gracias a Dios, por su amor incondicional, por haberme dado la vida y a una hermosa familia.

A mi asesora, Dra. María Elena Salazar, por guiarme en el proceso y compartir conmigo sus conocimientos y experiencia profesional, gracias por sus consejos y valioso tiempo.

Doy gracias a mi coasesora, Dra. Juana del Valle, por brindarme la oportunidad de realizar este trabajo, gracias por motivarme cada día y por todo su conocimiento compartido.

A los docentes de mi querida universidad, UNMSM Facultad de Farmacia y Bioquímica, gracias por brindarme una excelente educación.

A mis amigas y amigos que me apoyaron y alentaron a no desistir de mis sueños.

## ÍNDICE

Índice de tablas.....	vii
Índice de figuras.....	vii
Índice de anexos.....	ix
Acrónimos y abreviaturas.....	x
Resumen.....	xi
Summary.....	xii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
I.1. Determinación de problema de investigación .....	3
I.1.1 Planteamiento del problema.....	3
I.1.2 Formulación del problema.....	4
I.2. Objetivos.....	4
I.2.1. Objetivo general.....	4
I.2.2. Objetivos específicos.....	4
I.3. Importancia y alcance de la investigación.....	5
I.4. Limitaciones de la investigación.....	6
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	7
II.1. Antecedentes del estudio.....	7
II.1.1. Antecedentes internacionales.....	7
II.1.1. Antecedentes nacionales.....	8
II.2. Bases teóricas.....	9
II.2.1. Enterobacterias.....	9
II.2.1.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	9
II.2.1.1.1. Taxonomía .....	9
II.2.1.1.2. Características microbiológicas.....	10
II.2.1.1.3. Hábitat.....	11
II.2.1.1.4. Factores de virulencia.....	11
II.2.1.1.5. Importancia clínica.....	14
II.2.2. Clasificación de antimicrobianos.....	15
II.2.3. Resistencia antimicrobianos .....	16
II.3. Glosario de términos.....	18
III. HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	19
III.1. Hipótesis.....	19

III.2. Variables.....	19
III.3. Operacionalización de variables.....	19
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
IV.1. Área de estudio.....	20
IV.2. Diseño de investigación.....	20
IV.3. Población y muestra.....	20
IV.4. Procedimiento.....	21
4.4.1 Recolección y conservación de cepas clínicas.....	21
4.4.2 Reactivación de cepas clínicas.....	21
4.4.3 Identificación molecular de las cepas clínicas.....	21
4.4.3.1 Extracción de ADN bacteriano.....	21
4.4.3.2 PCR convencional.....	21
4.4.3.3 Electroforesis en gel de agarosa.....	23
4.4.4 Pruebas de susceptibilidad.....	23
4.4.5 Detección fenotípica de las bombas de eflujo.....	24
4.4.5.1 CMI de ciprofloxacino y amikacina.....	24
4.4.5.2 CMI de ciprofloxacino y amikacina con inhibidores.....	25
4.4.6 Detección de genes de resistencia AcrAB.....	25
4.4.6.1 Extracción de ADN bacteriano.....	25
4.4.6.2 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	25
4.4.6.3 Electroforesis en gel de agarosa.....	27
IV.5. Análisis estadístico.....	27
V. RESULTADOS.....	27
V.1. Presentación y análisis de los resultados.....	28
5.1.1. Reactivación de cepas clínicas.....	28
5.1.2. Identificación molecular de las cepas clínicas.....	28
5.1.3. Pruebas de susceptibilidad.....	29
5.1.4. Detección fenotípica de las bombas de eflujo.....	30
5.1.5. Detección de genes de resistencia AcrAB.....	33
VI. DISCUSIÓN.....	34
VII. CONCLUSIONES.....	39
VIII. RECOMENDACIONES.....	40
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
X. ANEXOS.....	57

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Taxonomía de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	9
<b>Tabla 2.</b> Operacionalización de variables. ....	19
<b>Tabla 3.</b> Secuencias de cebadores específicas para la detección molecular de las cepas clínicas de <i>K. pneumoniae</i> . ....	23
<b>Tabla 4.</b> Secuencias de cebadores específicas para la detección de gene AcrA de la bomba de eflujo AcrAB de <i>K. pneumoniae</i> .....	26
<b>Tabla 5.</b> Resultados de las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos entre los aislamientos de <i>K. pneumoniae</i> .....	29
<b>Tabla 6.</b> Interpretación del perfil susceptibilidad de las cepas de <i>K. pneumoniae</i> según las lecturas de la CMI.....	31
<b>Tabla 7.</b> Cambios en la resistencia a amikacina entre PABN y CCCP en 16 aislados clínicos de <i>K. pneumoniae</i> .....	32
<b>Tabla 8.</b> Cambios en la resistencia a ciprofloxacino entre PABN y CCCP en 16 aislados clínicos de <i>K. pneumoniae</i> .....	32
<b>Tabla 9.</b> Lecturas de las absorbancias de CMI con amikacina.....	59
<b>Tabla 10.</b> Lecturas de absorbancias de CMI de ciprofloxacino.....	60
<b>Tabla 11.</b> Lecturas de absorbancias de CMI de amikacina más PABN.....	61
<b>Tabla 12.</b> Lecturas de absorbancias de CMI amikacina CCCP.....	62
<b>Tabla 13.</b> Lecturas de absorbancias de CMI de ciprofloxacino más PABN.....	63
<b>Tabla 14.</b> Lecturas de absorbancias de CMI de ciprofloxacino más CCCP.....	64

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura de <i>K. pneumoniae</i> .....	10
<b>Figura 2.</b> Colonias de <i>K. pneumoniae</i> en agar MacConkey.....	10
<b>Figura 3.</b> Factores de virulencia de <i>K. pneumoniae</i> . ....	12
<b>Figura 4.</b> Blast del primer KP888-F: AAGCAAGCCAGAACAGAAAG.....	22
<b>Figura 5.</b> Blast del primer KP888-R: ACTTCGGTTTTATCCAGGTC.....	22
<b>Figura 6.</b> Alienación de los primers mediante el programa SnapGene.....	22
<b>Figura 7.</b> Blast del primer AcrA-F: TGATGCTCTCAGGCAGCTTA.....	26
<b>Figura 8.</b> Blast del primer AcrA-R: GCCTGGATATCGCTACCTTC.....	26
<b>Figura 9.</b> Alienación de los primers mediante el programa SnapGene.....	26
<b>Figura 10.</b> Resultado de las cepas clínicas reactivadas en agar BHI.....	28
<b>Figura 11.</b> Porcentaje total de las cepas clínicas reactivadas. ....	28
<b>Figura 12.</b> Electroforesis de PCR para identificación de <i>K. pneumoniae</i> .....	29
<b>Figura 13.</b> Perfil de susceptibilidad de aislamientos de <i>K. pneumoniae</i> .....	30
<b>Figura 14A.</b> Electroforesis de PCR para identificación del gen AcrA.....	33
<b>Figura 14B.</b> Repetición de la electroforesis de PCR para el gen AcrA .....	33
<b>Figura 15.</b> Gráficos del promedio de lecturas de CMI versus la concentración antibiótica en amikacina.....	65
<b>Figura 16.</b> Gráficos del promedio de lecturas de CMI versus la concentración antibiótica en ciprofloxacino.....	68

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo N°01.</b> Operacionalización de variables.....	57
<b>Anexo N°02.</b> Aprobación del comité de ética.....	58
<b>Anexo N°03.</b> Resultados de las lecturas de la CMI.....	59
<b>Anexo N°04.</b> Gráficos CMI versus la concentración antibiótica.....	65
<b>Anexo N°05.</b> Resultados del antibiograma del laboratorio de microbiología del Hospital Almenara.....	71

## ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

**CCCP:** Carbonil cianida 3-clorofenilhidrazona.

**CMI:** Concentración Mínima Inhibitoria.

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

**ITU:** Infecciones del Tracto Urinario.

**LPS:** Lipopolisacárido.

**MDR:** Multidrogoresistente.

**NAC:** Neumonía Adquirida en la Comunidad.

**OMS:** Organización Mundial de la Salud.

**PAβN:** Fenilalanina-arginina β-naftilamida.

**RCP (PCR):** Reacción en la Cadena Polimerasa.

**RRP (PRR):** Receptores de Reconocimiento de Patrones.

**RTL4 (TLR4):** Receptor tipo toll 4.

**DEPC:** Dietilpirocarbonato

## RESUMEN

*Klebsiella pneumoniae* es una bacteria encapsulada gramnegativa, y se encuentra en las personas como parte del el tracto digestivo y la orofaringe, desde ahí se puede incorporar al torrente sanguíneo y a otros tejidos, produciendo severas infecciones en el sitio quirúrgico, en el corazón, en el tracto urinario, bacteriemia, septicemia neumonía adquirida en el hospital y en la comunidad”. En tal contexto, el objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia de la bomba de eflujo AcrAB en cepas clínicas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a antimicrobianos aisladas de pacientes hospitalizados con diagnóstico de neumonía durante 2019-2020. **Metodología**, se realizó un estudio observacional descriptivo, con 30 cepas clínicas que presentaron altas tasas de resistencia a diferentes antimicrobianos. Para la identificación de las bombas de eflujo mediante métodos fenotípicos, se utilizaron inhibidores de la bomba de eflujo (Fenilalanina-arginina  $\beta$ -naftilamida y Carbonil cianida 3-clorofenilhidrazona), y la identificación genotípica se realizó mediante RCP convencional amplificando el gen *acrA* de la bomba de eflujo AcrAB. **Resultados**, se identificaron 16 cepas de *Klebsiella pneumoniae*, donde 93,75% (15/16) fueron resistentes a ciprofloxacino y 18,75% (3/16) a amikacina. En la detección fenotípica de los 16 aislados clínicos, se observó reducción de la CMI de 2 a 8 veces, y de 2 a 6 veces al añadir ciprofloxacino más los inhibidores CCCP y PA $\beta$ N, respectivamente. Por lo contrario, al añadir amikacina más los inhibidores CCCP y PA $\beta$ N, se observó reducción de la CMI hasta 2 veces, y de 2 a 6 veces, respectivamente. Mediante la detección genotípica de las bombas de eflujo, se observó 7 (43,45%) cepas positivas para el gen de resistencia *acrA*. **Conclusiones**, Las cepas clínicas de *Klebsiella pneumoniae* del presente estudio, aisladas de pacientes hospitalizados con diagnóstico de neumonía, fueron portadoras del gen *acrA* que codifica para la bomba de eflujo.

**Palabras clave:** Cepas clínicas, *Klebsiella pneumoniae*, Bomba de eflujo AcrAB, gen *acrA*, antimicrobianos.



## SUMMARY

*Klebsiella pneumoniae*, an encapsulated gram-negative bacterium found in humans as part of the gastrointestinal tract and oropharynx, from there it can enter the bloodstream and other tissues, causing severe infections at the surgical site, in the heart, in the urinary tract, bacteremia, sepsis, hospital-acquired and community-acquired pneumonia. In this context, the objective of the present study was to determine the prevalence of the AcrAB efflux pump in clinical strains of *Klebsiella pneumoniae* resistant to antimicrobials isolated from hospitalized patients diagnosed with pneumonia during 2019-2020. **Methodology**, a descriptive observational study was carried out, with 30 clinical strains that presented high rates of resistance to different antimicrobials. For the identification of efflux pumps by phenotypic methods, efflux pump inhibitors (Phenylalanine-arginine  $\beta$ -naphthylamide and Carbonyl cyanide 3-chlorophenylhydrazone) were used, and genotypic identification was performed by conventional PCR amplifying the *acrA* gene of the AcrAB efflux pump. **Results**: 16 strains of *Klebsiella pneumoniae* were identified, where 93.75% (15/16) were resistant to ciprofloxacin and 18.75% (3/16) to amikacin. In the phenotypic detection of the 16 isolated cases, the reduction of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) from 2 to 8 times, and from 2 to 6 times when adding ciprofloxacin plus the CCCP and PA $\beta$ N inhibitors, respectively, will be ruled out. On the contrary, when adding amikacin plus the CCCP and PA $\beta$ N inhibitors, a 2-fold and 2- to 6-fold reduction in MIC was demonstrated, respectively. Through genotypic detection of efflux pumps, 7 (43.45%) strains were found to be positive for the *acrA* resistance gene. **Conclusions**. The clinical strains of *Klebsiella pneumoniae* in this study, isolated from hospitalized patients with a diagnosis of pneumonia, were carriers of the *acrA* gene that coded for the efflux pump.

**Keywords**: Clinical strains, *Klebsiella pneumoniae*, AcrAB efflux pump, *acrA* gene, antimicrobials.

## I. INTRODUCCIÓN

*K. pneumoniae* es una bacteria encapsulada gramnegativa perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*<sup>1</sup>, siendo la más importante del género *Klebsiella*<sup>2</sup>. En las personas, se encuentra principalmente en el tracto digestivo y en una porción bucal de la faringe<sup>3</sup>, además se puede incorporar a la circulación y a otros tejidos, produciendo severas infecciones<sup>4</sup>.

Esta cepa es uno de los patógenos nosocomiales más comunes del mundo, y causa infecciones graves como bacteriemia, septicemia, infección de heridas en el sitio quirúrgico, endocarditis, infección en las vías urinarias, neumonía adquirida en el hospital y en la comunidad<sup>5</sup>. Siendo la neumonía bacteriana adquirida en la comunidad, una infección piógena grave que muestra anomalías radiográficas características, con una alta tasa de mortalidad<sup>6</sup>. Además, *K. pneumoniae* contribuye al aumento de infecciones oportunistas en pacientes inmunodeprimidos<sup>7</sup>.

Las infecciones por *K. pneumoniae* representan aproximadamente un tercio de todas las infecciones por gramnegativos<sup>8</sup>, en las últimas décadas se han informado tasas crecientes de infección por dicha bacteria<sup>9</sup>, siendo una de las principales bacterias con altas tasas morbilidad y mortalidad en todo el mundo<sup>10</sup>. Como se mencionó anteriormente, presenta una alta mortalidad global mayor del 50%<sup>11</sup>. En Perú la mitad de las bacteriemias producidas por enterobacterias en pacientes hospitalizados de nuestro medio, son por causa de *K. pneumoniae*, siendo 40 % adquiridas en la comunidad y alcanzando una mortalidad del 55%<sup>11,12</sup>.

*K. pneumoniae* expresa diferentes mecanismos de resistencia, los cuales se describen ampliamente como la desactivación enzimática de antibióticos y reducción de la permeabilidad de la membrana<sup>13</sup>. Además, varios informes proporcionan evidencia de la reducción de la absorción de antibióticos debido a las barreras de permeabilidad causadas por mutaciones o pérdida de porinas<sup>14</sup>.

Sin embargo, la sobreexpresión de bombas de eflujo causa una mayor resistencia contra muchos tipos de antimicrobianos<sup>15</sup>, dichas bombas son parte de la membrana celular de la bacteria y es un mecanismo de resistencia que permite extruir antimicrobianos y compuestos tóxicos desde el ambiente intracelular extracelular de la bacteria<sup>16</sup>.

Existen cinco tipos de bombas de eflujo en *K. pneumoniae*, clasificadas según la secuencia de aminoácidos y la fuente de energía que utiliza<sup>17</sup>. La familia ABC, pertenece a los transportadores activos primarios porque requiere de energía para el transporte los compuestos<sup>18</sup>. Por otro lado, las familias MFS, SMR, RND y MATE pertenecen al transporte activo secundario, porque no requiere de energía<sup>19</sup>. Dentro de estas familias, la de más importancia es la superfamilia RND, con sistema de salida que atraviesa la membrana externa e interna, y está potenciado por una proteína del canal de la membrana externa y una proteína adaptadora, codificados por Tol C y acrAB<sup>20</sup>. AcrAB<sup>21</sup>, OqxAB<sup>22</sup>, EefAB<sup>23</sup>, KexD<sup>24</sup>, son genes de la bomba de eflujo que tienen la capacidad de expresar resistencia a diferentes fármacos en *K. pneumoniae*, y las cuales se clasifican dentro de la superfamilia RND<sup>25</sup>, este de bombas de eflujo de múltiples fármacos, protege a la bacteria de sustancias químicas nocivas, y cuya sobreexpresión se asociada con disminución de la susceptibilidad frente a los antimicrobianos<sup>26</sup>.

Se conoce que la sobreexpresión del complejo AcrAB de la bomba de eflujo, le confiere a *K. pneumoniae* resistencia a aminoglucósidos (tobramicina, amikacina y kanamicina), fluoroquinolonas (ciprofloxacino y norfloxacino),  $\beta$ -lactámicos<sup>27</sup>, y carbapenémicos de tercera y cuarta generación<sup>28</sup>.

Como se ha descrito anteriormente, a nivel global y en el Perú, la resistencia antimicrobiana se ha incrementado en frecuencia e importancia en las últimas décadas. Sin embargo, no se ha fortalecido la vigilancia epidemiológica y notificación de *K. pneumoniae* resistente a antimicrobianos por bombas de eflujo, en Perú. Por tal motivo, es importante determinar la prevalencia de la bomba de eflujo AcrAB en cepas clínicas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a antimicrobianos aisladas de pacientes hospitalizados con diagnóstico de neumonía durante 2019-2020.

## **I.1. Determinación del problema de investigación**

### **I.1.1. Planteamiento del problema**

La resistencia hacia los antimicrobianos plantea una grave peligro para la salud pública<sup>29</sup>, y su importancia se debe al enorme impacto que representa para la población<sup>30</sup>. En el informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se revela que esta grave amenaza existe en todas partes del mundo, y afecta a cualquier persona, sin discriminar edad y país de residencia<sup>31</sup>. En el Perú, la resistencia antimicrobiana se ha incrementado constantemente en los últimos años, acompañadas de tasas altas mortalidad; sin embargo, las cifras pueden estar subestimadas por la falta de un sistema de vigilancia epidemiológico, ya que no se recopilan de manera sistemática los datos, y además los trabajadores del sector de salud no están integrados y capacitados en un sistema de información actual<sup>32</sup>. Una de las principales especies con mayor resistencia a antimicrobianos es *K. pneumoniae*, un residente natural de la flora del tracto gastrointestinal en humanos y animales sanos<sup>33</sup>. Este patógeno oportunista, está involucrado en infecciones del tracto urinario, de heridas quirúrgicas, neumonía, e infecciones potencialmente mortales en el corazón (endocarditis) y septicemia<sup>34</sup>. Además, causa infecciones graves adquiridas en la comunidad, como infecciones intraoculares graves, neumonía necrotizante y abscesos hepáticos piógenos<sup>34</sup>. En un estudio recientemente publicado se reportó, en pacientes hospitalizados con COVID-19, aislados clínicos MDR de *K. pneumoniae* que portaban genes asociados a la resistencia<sup>35</sup>. Por lo antes mencionado, *K. pneumoniae* está considerado en el grupo ESKAPE<sup>36</sup>, los cuales se asocian con un mayor riesgo de mortalidad<sup>35,37</sup>, y están incluidos en la “relación de 12 bacterias, contra las que se requieren con urgencia nuevos tratamientos antimicrobianos<sup>38</sup>”. Como se ha descrito, *K. pneumoniae* expresa resistencia a partir de genes cromosomales o plasmídicos, y además pueden manifestar varios mecanismos a la vez, lo que le confiere una resistencia a una amplia gama de antibióticos. Entre los distintos mecanismos que presenta *K. pneumoniae*, se encuentran como los de mayor importancia, la producción de bombas de eflujo MDR.

La sobreexpresión de los genes *acrAB* regulados por *RamA* y la sobreexpresión de *oqxAB* regulados por *RarA* median la resistencia a múltiples fármacos como: tigeciclina, ciprofloxacino, nitrofurantoína, entre otros<sup>39</sup>. Además, se ha detectado altas tasas de prevalencia de los genes que codifican resistencia a quinolonas en aislados clínicos de *K. pneumoniae*, por la expresión de la bomba de eflujo *AcrAB*<sup>40</sup>, consecuentemente, dichos antibióticos han perdido su eficacia contra estas cepas clínicas. Por tal motivo, es importante determinar la prevalencia de la bomba de eflujo *AcrAB* en cepas clínicas de *K. pneumoniae* resistentes a antimicrobianos aisladas de pacientes hospitalizados con diagnóstico de neumonía durante 2019-2020.

### **I.1.2. Formulación del problema de investigación**

¿Cuál es la prevalencia de la bomba de eflujo *AcrAB* en cepas clínicas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a antimicrobianos aisladas de pacientes hospitalizados con diagnóstico de neumonía durante 2019-2020?

## **I.1. Objetivos**

### **I.1.1. Objetivo general**

- Determinar la prevalencia de la bomba de eflujo *AcrAB* en cepas clínicas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a antimicrobianos aisladas de pacientes hospitalizados con diagnóstico de neumonía durante 2019-2020

### **I.1.2. Objetivos específicos**

1. Identificar mediante PCR las cepas clínicas de *K. pneumoniae* aislada de pacientes hospitalizados con diagnóstico clínico de neumonía.
2. Realizar la detección fenotípica de la bomba de eflujo *AcrAB* en cepas clínicas de *K. pneumoniae* aisladas de pacientes hospitalizados con diagnóstico de neumonía.
3. Realizar la detección genotípica de la bomba de eflujo *AcrAB* mediante PCR en cepas clínicas de *K. pneumoniae*.

## **I.2. Importancia y alcance de la investigación**

Es fundamental controlar la resistencia antimicrobiana, ya que es un problema para la comunidad médica en su conjunto, porque compromete el plan de tratamiento al retrasar la administración de la terapia antibiótica y reducir las opciones de tratamientos adecuados; además genera importantes costos económico y en el bienestar de las personas afectadas.

La importancia del control de la resistencia antimicrobiana es de mucha relevancia, porque podría generar un ahorro para las personas afectadas y para el estado; así mismo, se reduciría el uso no controlado e inapropiado de los medicamentos, que contribuyen a la resistencia antimicrobiana y además generan un problema de salud pública mundial.

Por otro lado, al caracterizar las nuevas cepas emergentes y las tasas de prevalencia de los genes resistente a antimicrobianos; se puede orientar a un tratamiento personalizado y acertado de los pacientes con infecciones ocasionadas por bacterias resistentes, es así como se podría disminuir el porcentaje de morbimortalidad, costos en hospitales y para los mismos pacientes con infecciones causadas por *K. pneumoniae* resistente a múltiples fármacos.

Caracterizar las nuevas cepas emergentes sirve para fortalecer la capacidad del sistema nacional de vigilancia epidemiológica molecular de resistencia antimicrobiana, en el Perú. Además, los datos obtenidos permiten fortalecer los laboratorios para identificar correctamente las cepas resistentes, previa integración y capacitación del personal de salud. Del mismo modo, los datos obtenidos pueden ser de utilidad para planes estratégicos multinacionales de recolección de datos sobre resistencia antimicrobiana, y de esa manera contener la resistencia y mejorar la vigilancia epidemiológica para detectar tendencias de resistencia emergentes y a largo plazo.

Además, el tratamiento antibiótico en combinación con el inhibidor de la bomba de eflujo brindará información a las autoridades pertinentes del hospital, para la posibilidad de nuevos tratamientos terapéuticos eficaces contra *K. pneumoniae*, de tal manera que puedan suscitarse medidas preventivas para impedir la diseminación de *K. pneumoniae* poseedor de genes de resistencia.

En el ámbito científico, sirve como sustento para realizar nuevas investigaciones, contribuyendo en la búsqueda de nuevas herramientas que servirán para disminuir la morbimortalidad debido a la resistencia antimicrobiana.

Este estudio sienta bases para evaluar la prevalencia de otras bombas de eflujo en cepas clínicas de *K. pneumoniae*, y conocer la relación que existe entre la resistencia antibiótica a *K. pneumoniae* y el origen hospitalario de los paciente en todo el Perú, contribuyendo a la epidemiología molecular bacteriana.

### **I.3. Limitaciones de la investigación**

El estudio actual se presentaron limitaciones, debido a la pandemia ocasionada por el nuevo coronavirus (COVID-19) se establecieron diversas restricciones como el estado de emergencia; en consecuencia, el tamaño de muestra se redujo a 30 aislados clínicos.

## II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

### II.1. Antecedentes del estudio

#### II.1.1 Antecedentes Internacionales

La bomba de eflujo de tipo RND, AcrAB-TolC, se ha demostrado que desempeña un papel importante en la resistencia a *Enterobacteriaceae*, especialmente la resistencia en *K. pneumoniae* a los antimicrobianos<sup>41</sup>. Padilla E. *et al.*, 2010<sup>42</sup>, reportó modificaciones en la permeabilidad celular debido a alteraciones en los sistemas de bombas de eflujo AcrAB-TolC y KpnEF, además observó que al agregar un inhibidor de la bomba aumenta la susceptibilidad a tobramicina y gentamicina. Según Hauck C. *et al.*<sup>43</sup>, OqxAB “es una bomba de eflujo de importancia en *K. pneumoniae*, que se relaciona con la resistencia a las quinolonas.

Govinden U. *et al.*, 2016<sup>44</sup>, reportaron resistencia hacia la tigeciclina, a causa de la “sobreexpresión de la bomba de eflujo de AcrAB-TolC y OqxAB; además, de las modificaciones de sus reguladores RarA, RamA, RamR”. Sin embargo, su papel en la resistencia no es definitivo y puede deberse al aumento de la expresión de otras bombas de eflujo como KpgABC<sup>45</sup>. Recientemente Ruilian Li, *et al.*, 2017<sup>46</sup>, evaluaron la susceptibilidad y los mecanismos de resistencia de cepas clínicas no expuestas a tigeciclina de *Klebsiella pneumoniae*, en donde reportaron una tasa de no susceptibilidad del 3,44%; y además determinaron los niveles de expresión de las bombas de eflujo AcrAB, OqxAB y sus reguladores RamA, MarA, RarA y SoxS; siendo uniformemente alta la expresión de los genes *acrB* y *ramA*, también se encontró sobreexpresión simultánea de los genes *oqxB* y *rarA*, con una asociación significativa entre la expresión de *ramA* y las CMI de tigeciclina.

Qingqing X. *et al.*<sup>47</sup>, aislaron cepas clínicas de *K. pneumoniae* resistentes a nitrofurantoína e investigaron el mecanismo de resistencia, observaron que al adicionar los inhibidores de la bomba de eflujo, la CMI disminuyó de 128 mg/mL a 32 mg/L; y por lo tanto, aumentó la susceptibilidad de las cepas clínicas a nitrofurantoína.



Para confirmar el papel de los genes *acrB* y *oqxB* en la resistencia a nitrofurantoína construyeron cepas de genes knockout, demostrándose así que AcrAB y OqxAB contribuyeron a la resistencia a nitrofurantoína en *K. pneumoniae*.

Srinivasan V. y Rajamohanse G.<sup>48</sup>, investigaron cepas clínicas de *K. pneumoniae* resistentes a tigeciclina. Para investigar la actividad de la bomba eflujo, se añadió el inhibidor carbonil-cianuro-clorofenilhidrazona (CCCP), y mediante pruebas moleculares analizaron los genes de resistencia de la bomba de eflujo (*acrA*, *acrB*, *tolC*, *oqxA* y *oqxB*) y los reguladores de la bomba (*acrR*, *marA*, *soxS*, *rarA*, *rob* y *ramA*), además realizaron la tipificación molecular de las cepas clínicas resistentes a tigeciclina. Se reportaron altos niveles de expresión de los genes y los reguladores de la bomba de eflujo en la mayoría de las cepas clínicas resistentes. Observaron niveles más altos de expresión de los reguladores *rarA* y del gen de bombeo *oqxB*, y el aumento de la expresión de *acrB* se asoció con la expresión de *ramA* y *marA*.

Jin-xin Z. *et al.*<sup>41</sup>, investigaron las “características y mecanismos de la resistencia a la evaraciclina en aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae*”, los niveles de expresión de las bombas de eflujo y sus reguladores se determinaron mediante PCR cuantitativa de transcripción inversa. Identificaron 67 cepas aisladas no susceptibles a la evaraciclina, de los cuales, 11 mostraron sobreexpresión en el gen regulador de la bomba de eflujo *ramA*, además observaron que las CMI de algunos aislados resistentes fueron inhibidos significativamente por PAβN. Concluyendo que la sobreexpresión de las bombas de eflujo OqxAB y MacAB y el regulador transcripcional *ramA*, participan en la resistencia a evaraciclina en *K. pneumoniae*.

### **II.1.2 Antecedentes Nacionales**

Actualmente en Perú, no se han desarrollado estudios sobre la resistencia de *Klebsiella pneumoniae* por bombas de eflujo.

## II.2. Bases teóricas

### II.2.1 Enterobacterias

*Enterobacteriaceae* es una familia que incluye a los bacilos anaerobios o aerobios, no esporulados, facultativos, fermentadores de hidratos de carbono, sin actividad de citocromo oxidasa, y metabólicamente son anaerobios facultativos<sup>49</sup>. Es un grupo variado y extenso de bacilos gramnegativos, y se encuentran en la flora intestinal de vertebrados (personas y animales), también se puede encontrar en la vegetación, agua dulce, manantiales termales y fuentes marinas o salinas<sup>50</sup>. En los seres humanos está presente en la microbiota natural de intestino, en la piel, en la uretra anterior y no comúnmente en las vías aéreas superiores<sup>33</sup>. Está conformada por más de 20 géneros, dentro de los cuales las de mayor importancia y con más reportes son: *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Yersinia*, *Proteus*<sup>51</sup>.

#### II.2.1.1 *Klebsiella pneumoniae*

##### II.2.1.1.1 Taxonomía

La clasificación taxonómica se basó en la utilización de sustratos y las actividades enzimáticas<sup>52</sup>. Como se ha descrito anteriormente, *Klebsiella* forma parte de la familia *Enterobacteriaceae*, y se puede clasificar de la siguiente manera (Tabla 1):

Tabla 1: Taxonomía de *Klebsiella pneumoniae*<sup>53</sup>

<b>Reino</b>	<i>Bacteria</i>
<b>Subreino</b>	<i>Negibacteria</i>
<b>Filo</b>	<i>Proteobacteria</i>
<b>Clase</b>	<i>Gammaproteobacteria</i>
<b>Orden</b>	<i>Enterobacteriales</i>
<b>Familia</b>	<i>Enterobacteriaceae</i>
<b>Genero</b>	<i>Klebsiella</i>
<b>Especie</b>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

El género *Klebsiella*, familia *Enterobacteriaceae*, nominado por V. Trevisan en 1885, en mención al bacteriólogo alemán Theodor Albrecht Edwin Klebs<sup>54</sup>. *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* y *K. granulomatis* son las principales especies asociadas con enfermedades en humanos<sup>55</sup>.

#### II.2.1.1.2 Características microbiológicas

*Klebsiella pneumoniae* es un bacilo gramnegativo con forma de bastoncillo que mide 2,0  $\mu\text{m}$  de longitud y 0,5  $\mu\text{m}$  de diámetro (Figura 1)<sup>56</sup>. Se caracteriza por ser una bacteria inmóvil, encapsulada, anaerobia facultativa, que produce ácido y gas a partir de la lactosa. Además, forman colonias rosadas y de consistencia mucóide en agar MacConkey (Figura 2)<sup>33</sup>.

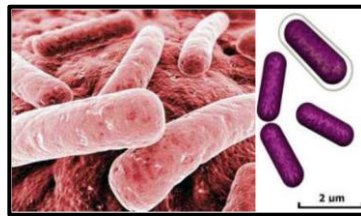


Figura 1. Morfología microscópica de *K. pneumoniae*<sup>57</sup>.



Figura 2. Colonias de *Klebsiella pneumoniae* en agar MacConkey<sup>58</sup>.

Las reacciones bioquímicas para *K. pneumoniae* son: catalasa positiva, oxidasa negativa, fermentador de lactosa, indol negativo, reacción de Voges Proskauer (VP) positiva, crece en KCN, usa citrato exclusivamente como fuente de carbono, y es incapaz de crecer a 10°C<sup>33,57</sup>. Existen varias especies con reacciones bioquímicas similares, la prueba de indol y de VP son reacciones características en *Klebsiella pneumoniae* que lo diferencia de otras especies<sup>59</sup>.

Muchos estudios afirman que *K. oxytoca*, es indol positivo, tiene reacción VP positiva y es capaz de crecer a 10°C. Por otro lado, *K. ozaenae* y *K. rhinoscleromatis* son indol negativas con una reacción VP negativa<sup>57</sup>.

#### **II.2.1.1.3 Hábitat**

*Klebsiella pneumoniae* está ampliamente distribuida en la naturaleza. Es un patógeno oportunista común para humanos y otros animales, además de pertenecer a la microbiota residente o transitoria, en las personas se encuentra en el tracto digestivo, tracto respiratorio, y en la piel de individuos sanos<sup>60</sup>. Tiene la facultad de provocar una amplia serie de infecciones intrahospitalarias y adquiridas en la comunidad”, como infecciones del tracto urinario (ITU), del tracto respiratorio, de heridas y tejidos blando<sup>33</sup>, también infecciones graves como la neumonía y la meningitis<sup>5</sup>. Otros hábitats incluyen aguas residuales, agua potable, suelos, aguas superficiales, efluentes industriales y vegetación<sup>61</sup>.

#### **II.2.1.1.4 Factores de virulencia**

Al ingresar al huésped, partes de la estructura de *K. pneumoniae*, patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), es reconocido por receptores de reconocimiento de patrones” (PRR), los cuales estimulan al organismo a producir varios mediadores inmunitarios. Al evadir estas barreras mecánicas y químicas, del sistema inmune humoral y celular del huésped, se logra la infección<sup>62</sup>.

En la actualidad, *K. pneumoniae* presenta cuatro factores principales de virulencia identificados: pili, cápsula, lipopolisacárido (LPS) y transportadores de hierro (sideróforos) (Figura 3)<sup>50</sup>.

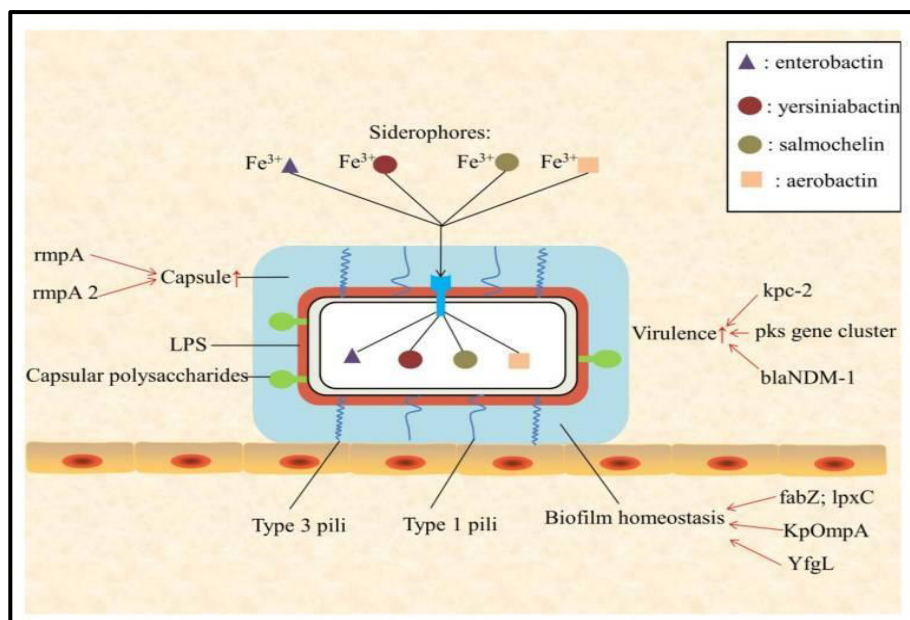


Figura 3: Factores de virulencia de *K. pneumoniae*

### A. Estructuras de adhesión (pili)

Como se mencionó anteriormente, para que se desarrolle un proceso infeccioso, *K. pneumoniae* debe ingresar y unirse a las células del huésped (adherencia). Estas propiedades adhesivas están mediadas por los pili (proyecciones filamentosas no flagelares, o fimbrias), que miden entre 10 y 11  $\mu\text{m}$  de largo y diámetro, respectivamente<sup>63</sup>. Los pili son subunidades de proteína globular polimérica (pilina) que pesan aproximadamente de 15 a 26 kDa, y tienen la capacidad de aglutinamiento. Existen diferentes tipos de pili descritos en *K. pneumoniae*, de los cuales hay tipos predominantes de pili que se ensamblan mediante adhesinas: pili tipo 1 y tipo 3, los cuales promueven la adherencia bacteriana a las superficies del epitelio, inmunitarias y abióticas<sup>65</sup>.

### B. Cápsula

*K. pneumoniae*, tiene una cápsula prominente, la capa más externa de la bacteria que está compuesta de polisacáridos de ácidos complejos. El polisacárido capsular (antígeno K), un factor de virulencia puede activar el sistema inmunitario<sup>66</sup>, y protege a la bacteria de la fagocitosis<sup>67</sup>.

Las subunidades repetitivas capsulares, se pueden clasificar en 77 serotipos diferentes, los cuales constan de cuatro a seis azúcares

(monosacáridos) y ácidos urónicos, además estos serotipos se utilizan para diferenciar aislados de *K. pneumoniae*<sup>68</sup>. Los serotipos más virulentos son K1, K2, K4 y K5<sup>33</sup>.

“La hiperproducción de la cápsula de polisacáridos es el principal mecanismo de virulencia informado en *K. pneumoniae*, que coopera a evadir “la respuesta del sistema inmune y la resistencia a los antimicrobianos”<sup>69</sup>. La producción de cápsulas está estrictamente asociada con la NAC y las infecciones urinarias adquiridas en la comunidad por *K. pneumoniae*<sup>70,71</sup>.”

### **C. Lipopolisacárido (LPS)**

“El LPS como parte de la membrana externa de *K. pneumoniae*, es un elemento importante porque puede modificarse y no ser reconocido por la célula huésped, y en otras cepas puede usar la cápsula para camuflar el LPS y evitar la detección del receptor tipo toll 4 (TLR4)<sup>72,73</sup>.”

Consta del lípido A (endotoxina), un núcleo de oligosacárido y el antígeno O; este último es la subunidad más externa del LPS y la principal vía de defensa contra el sistema del complemento. El antígeno O se une al constituyente complementario C3b, una opsonina que se forma como parte de la actuación del sistema del complemento, y por lo tanto frustra la lisis bacteriana por parte del complejo<sup>74</sup>. Se estiman ocho serotipos del antígeno O, y el antígeno O1 es el más común entre las cepas clínicas de *K. pneumoniae*<sup>68</sup>.

### **D. Transportadores de hierro**

Los sideróforos son moléculas que se unen al hierro que se sintetizan dentro de las bacterias y se secretan fuera de las células. Al formarse el complejo de hierro-sideróforo, es reconocido por receptores específicos de la membrana externa, transportándose al periplasma, donde los sideróforos se combinan con las proteínas del periplasma para transportarlos a la membrana interna. Finalmente, el hierro pasa a través del pasaje mediado por un transportador ABC hacia el citoplasma bacteriano, donde el hierro férrico se reduce a hierro ferroso accesible para las bacterias<sup>75</sup>.

En las cepas clínicas de *K. pneumoniae* se expresan cuatro sideróforos, que incluyen enterobactina, yersiniabactina, salmoquelina y aerobactina; estos mejoran la eficiencia de crecimiento de las bacterias<sup>76</sup>. Entre los cuatro sideróforos, la enterobactina contiene tres anillos de catecol que confieren la mayor afinidad de unión por Fe<sup>3+</sup>, lo que los hace esenciales y primarios<sup>77,78</sup>.

#### **II.2.1.1.5 Importancia clínica**

En los últimos años, *K. pneumoniae* ha sido una bacteria relevante y un problema de salud pública, debido a la adquisición de múltiples mecanismos de resistencias hacia los antibióticos<sup>79</sup>.

Las infecciones adquiridas en la comunidad e intrahospitalarias, por *K. pneumoniae*, involucran las vías respiratorias y urinarias, el torrente sanguíneo, el hígado, los sitios quirúrgicos y el sistema nervioso central<sup>80</sup>. Recientemente ha recibido más notoriedad debido a la alta morbilidad y mortalidad que generan<sup>81</sup>, siendo el agente causante de una variedad de infecciones como: neumonía, sepsis, ITU, bacteriemia, meningitis y abscesos hepáticos piógenos, entre otras. Existen enfermedades subyacentes que se han distinguido como factores de riesgo de infección, porque debilitan las defensas del huésped y, por lo tanto, aumentan la susceptibilidad a la infección. Específicamente, el cáncer, la diabetes mellitus y el alcoholismo pueden estar asociados con la infección de riesgo por *K. pneumoniae*<sup>3,33</sup>.

Por otro lado, *K. pneumoniae* es uno de los microorganismos que pertenecen al llamado grupo ESKAPE, que representan una amenaza global para la salud de las personas y está incluida como prioridad crítica en la “lista de microorganismos prioritarios para la investigación y desarrollo de nuevos antibióticos”<sup>82</sup>, y representan más del 50 % de las infecciones hospitalarias<sup>83</sup>.

## II.2.2 Clasificación de antimicrobianos

Los antibióticos se introdujeron en la práctica clínica en 1940, y desde entonces, es una de las formas de quimioterapia más exitosas en la historia de la medicina<sup>84</sup>. Existen diferentes formas de clasificarlos, por ejemplo:

- Según su estructura química, se clasifican en betalactámicos, tetraciclinas, quinolonas, aminoglucósidos, gluco péptidos, macrólidos, entre otros<sup>85</sup>.
- Según su espectro de acción, se pueden clasificar en antibióticos de amplio espectro (tetraciclinas, cloranfenicol y  $\beta$ -lactámicos), intermedio (aminoglucósidos y macrólidos) o reducido (gluco péptidos)<sup>86</sup>.
- Según el efecto antimicrobiano, se clasifican en bacteriostáticos (sulfamidas, trimetoprim, cloranfenicol, macrólidos y lincosamidas) y bactericidas (fosfomicina, nitrofurantoínas, polipéptidos, quinolonas,  $\beta$ -lactámicos, aminoglucósidos, rifampicina y vancomicina), bloquean el desarrollo y multiplicación, o provocan la muerte bacteriana, respectivamente <sup>85,86</sup>.
- Según su mecanismo de acción, los antimicrobianos que se unen a las estructuras de pared celular e inhiben la síntesis de la misma, son (carbapenem, betalactámicos, cefalosporinas, penicilinas, entre otros), antimicrobianos que se unen a las subunidades ribosomales 30S o 50S (cloranfenicol, aminoglucósidos, tetraciclinas, clindamicina, estreptograminas, linezólido, entre otros), antibióticos que modifican el metabolismo del ADN (rifampicina y rifabutina) y antimetabolitos (trimetoprim y sulfonamidas)<sup>87</sup>.



### **II.2.3. Resistencia a los antimicrobianos**

#### **II.2.3.1 Resistencia a aminoglucósidos**

*K. pneumoniae* obtuvo mecanismos de resistencia a los antimicrobianos aminoglucósidos, mediante genes resistentes codificados por plásmidos y enzimas modificadoras de fármacos con diversas actividades (adenilación, acetilación y fosforilación). La metilasa 16SrRNA, perteneciente a la familia del gen *armA*, codifica una enzima que bloquea la unión de los antibióticos al 16SrRNA, de esa manera le confiere resistencia a los antibióticos aminoglucósidos, incluida la plazomicina y los aminoglucósidos desarrollados recientemente<sup>88, 89</sup>.

Otro mecanismo de resistencia de *K. pneumoniae* hacia los aminoglucósidos, incluye la modificación de la permeabilidad celular, debido a los cambios en las bombas de eflujo (KpnEF y AcrAB -TolC)<sup>90</sup>. El sistema de eflujo AcrAB-TolC mostró resistencia a tobramicina y gentamicina<sup>90</sup>, mientras que el mutante kpnEF mostró una resistencia significativa a la tobramicina y la espectinomicina<sup>91</sup>. Además, también se encontró resistencia a los aminoglucósidos en cepas productoras de  $\beta$ -lactamasas<sup>92</sup>.

#### **II.2.3.2. Resistencia a quinolonas**

*K. pneumoniae* ha desarrollado múltiples mecanismos de resistencia, la resistencia hacia la fluoroquinolona incluye la mutación del gen *diana*, la producción de la bomba de eflujo MDR y la modificación de enzimas y proteínas de protección *diana*<sup>92</sup>. El tratamiento terapéutico de *K. pneumoniae* con ácido nalidíxico, y ofloxacina, se acompaña de resistencia debido a la mutación de la ADN girasa (subunidad *gyrA-gyrB*)<sup>93,94</sup>. Otras clases de resistencia son las alteraciones en la permeabilidad celular de *K. pneumoniae*, estos cambios incluyen la deficiencia de OmpK36<sup>95</sup> y la sobreexpresión del gen *acrAB* de la bomba de flujo de múltiples fármacos<sup>96</sup>. También incluye el determinante PMQR<sup>97</sup>, este grupo de genes contiene el gen *qnr*, el cual codifica proteínas que protegen a la topoisomerasa IV y el ADN girasa de la inhibición de la quinolona<sup>98</sup>.

### II.2.3.3. Resistencia a betalactámicos

Los antibióticos betalactámicos son una clase importante para la medicina humana. Sin embargo *K. pneumoniae* desarrolló múltiples mecanismos de resistencia a betalactámicos, *blaSHV-1* y *blaTEM-1* (son la primera clase de genes de betalactamasa), *blaSHV-2* es un gen de amplio espectro que genera resistencia hacia los betalactámicos, cefalosporinas y las monocosaminas, *blaTEM-3* es otra variante mediada por plásmidos<sup>99</sup>. *K. pneumoniae* expresa las principales betalactamasas (*blaTEM* y *blaSHV*), las cuales tienen una alta incidencia y prevalencia en muchos países<sup>100</sup>. Otras betalactamasas de espectro extendido pasan a *K. pneumoniae* mediante de transferencia horizontal de genes (HGT), como los genes de tipo *blaOXA*<sup>101</sup>, y los genes *blaGES* y *blaSFO*<sup>102</sup>, o *blaPER*, *blaTLA* y *blaVEB*<sup>103</sup>. Se ha descrito que la resistencia hacia los betalactámicos está activada por *ramA* y juega un rol fundamental en la mejora de la resistencia adquirida a los betalactámicos mediada por betalactamasas, los análisis proteómicos muestran que esta mejora se logra principalmente mediante la activación de la producción de bombas de eflujo<sup>104</sup>.

#### II.4. Glosario de términos

- **Absceso:** acumulación dolorosa de pus, ocasionada producto de una infección bacteriana que puede desarrollarse en cualquier parte del cuerpo<sup>105</sup>.
- **Bacteria oportunista:** la definición se basa en el sujeto receptivo y la bacteria; cuando el sujeto tiene una disminución de sus defensas inmunitarias, puede ser invadido por microorganismos de la microbiota comensal normal<sup>106</sup>.
- **Bombas de eflujo:** son transportadores de membrana, que permiten a los microorganismos regular su entorno interno mediante la eliminación de sustancias tóxicas, agentes antimicrobianos, metabolitos, etc<sup>107</sup>.
- **Fagocitosis:** es un proceso importante para la nutrición en organismos unicelulares, mientras que en organismos multicelulares se encuentra en células especializadas llamadas fagocitos<sup>108</sup>.
- **Neumonía nosocomial:** infección intrahospitalaria más frecuente en los pacientes hospitalizados<sup>109</sup>.
- **Piógeno:** se refiere a un tumor vascular común, benigno y adquirido que surge en tejidos como la piel y las membranas mucosas<sup>110</sup>.
- **Plásmidos:** son moléculas de ADN extracromosómicas generalmente circulares, que se autorreplican y son transferibles de un organismo a otro; se encuentran en una variedad de especies de bacterias, arqueas, hongos, algas y plantas<sup>111</sup>.
- **Septicemia:** es una forma clínicamente significativa de bacteriemia complicada y se caracteriza por la multiplicación de microorganismos dentro del torrente sanguíneo<sup>112</sup>.
- **Sideróforo:** son moléculas quelantes de hierro de bajo peso y alta afinidad producidas en respuesta a la deficiencia de hierro, también se conocen como factores de virulencia esenciales de las bacterias<sup>113</sup>.

### **III. HIPÓTESIS Y VARIABLES**

#### **III.1. Hipótesis (No aplica)**

#### **III.2. Variables**

##### **Variables descriptivas**

- Bomba de eflujo AcrAB.
- Cepas clínicas de *Klebsiella pneumoniae*

#### **III.3. Operacionalización de variables**

Tabla 2: Operacionalización de variables (Ver anexo 001)

## **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **IV.1. Área de estudio**

“Las muestras fueron obtenidas de pacientes hospitalizados con diagnóstico clínico de neumonía en el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, previa aprobación del Comité de Investigación. Posteriormente, fue aprobado por el Comité de Investigación del Instituto de Investigación Nutricional-UPC, donde se procesaron y analizaron las muestras. (Ver Anexo 02).”

### **IV.2. Diseño de investigación**

Se realizó un estudio de tipo observacional descriptivo puesto que no se manipularon las variables, y prospectivo porque los resultados se obtuvieron durante el desarrollo de la tesis.

### **IV.3. Población y muestra**

#### **IV.3.1. Material biológico**

- 30 cepas clínicas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a antimicrobianos, procedentes de pacientes hospitalizados con diagnóstico de neumonía durante 2019 - 2020.

#### **Criterios de inclusión:**

- Cepas clínicas provenientes de pacientes hospitalizados.
- Cepas clínicas resistentes a antimicrobianos.
- Cepas clínicas provenientes de pacientes mayores de 18 años.
- Cepas aisladas identificadas mediante pruebas microbiológicas.
- Cepas aisladas identificadas mediante pruebas moleculares.

#### **Criterios de exclusión:**

- Cepas clínicas no confirmadas mediante evaluación fenotípica y molecular como *K. pneumoniae*.

## **IV.4. Procedimiento**

### **4.4.1 Recolección y conservación de cepas clínicas**

“Se recolectaron 30 cepas clínicas de *Klebsiella pneumoniae* procedentes de muestras biológicas (secreción de heridas, sangre y orina) de pacientes hospitalizados con diagnóstico clínico de neumonía en el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen entre 2019 y 2020. Posteriormente fueron transportadas al Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Investigación Nutricional (IIN), donde se procesaron y analizaron.”

### **4.4.2 Reactivación de cepas clínicas**

Las cepas clínicas fueron reactivadas en agar Infusión Cerebro Corazón (BHI agar), para ello se recogió una asada generosa del criovial, previamente descongelado, y se sembró en la placa con agar BHI, mediante la técnica de estriado, con un asa descartable de 10 uL; posteriormente se incubó durante 24 horas a 37°C, y se analizó si hubo crecimiento bacteriano, finalmente se envolvió las placas en parafilm y se almacenó 4°C.

### **4.4.3 Identificación molecular de las cepas clínicas**

#### **4.4.3.1 Extracción de ADN bacteriano**

La extracción del ADN bacteriano se realizó tomando una colonia, con un asa bacteriológica de siembra, del cultivo en placa petri y se resuspendió en un tubo eppendorf de 1,5 mL, con 100 µL de agua de grado de biología molecular (tratada con tratada con dietilpirocarbonato (DEPC), libre de nucleasas y proteasas). Luego se procedió a realizar la extracción por calor en un termobloque a 100°C por 5 minutos y enseguida se centrifugó a 14 000 rpm por 5 minutos, para luego almacenar a -20°C<sup>99</sup>.

#### **4.4.3.2 PCR convencional**

Para la detección molecular de las cepas clínicas reactivadas, se buscaron secuencias específicas para *K. pneumoniae*. Posteriormente, las secuencias encontradas en artículos científicos se compararon haciendo uso de la herramienta Basic Local Alignment Search Tool -

Nucleotide (BLASTn) (Figura 4 y 5) se alinearon con el programa SnapGene (Figura 6), y se enviaron a MacroGen-Korea.

Organism	Blast Name	Score	Number of Hits	Description
<a href="#">Klebsiella</a>	<a href="#">enterobacteria</a>		100	
· <a href="#">Klebsiella pneumoniae</a>	<a href="#">enterobacteria</a>	40.1	93	<a href="#">Klebsiella pneumoniae hits</a>
· <a href="#">Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</a>	<a href="#">enterobacteria</a>	40.1	7	<a href="#">Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoni</a>

Figura 4. BLASTn del primer KP888-F:  
AAGCAAGCCAGAACAGAAAG.

Organism	Blast Name	Score	Number of Hits	Description
<a href="#">Klebsiella</a>	<a href="#">enterobacteria</a>		100	
· <a href="#">Klebsiella pneumoniae</a>	<a href="#">enterobacteria</a>	40.1	99	<a href="#">Klebsiella pneumoniae hits</a>
· <a href="#">Klebsiella variicola</a>	<a href="#">enterobacteria</a>	40.1	1	<a href="#">Klebsiella variicola hits</a>

Figura 5. BLASTn del primer KP888-R:  
ACTTCGGTTTTATCCAGGTC.

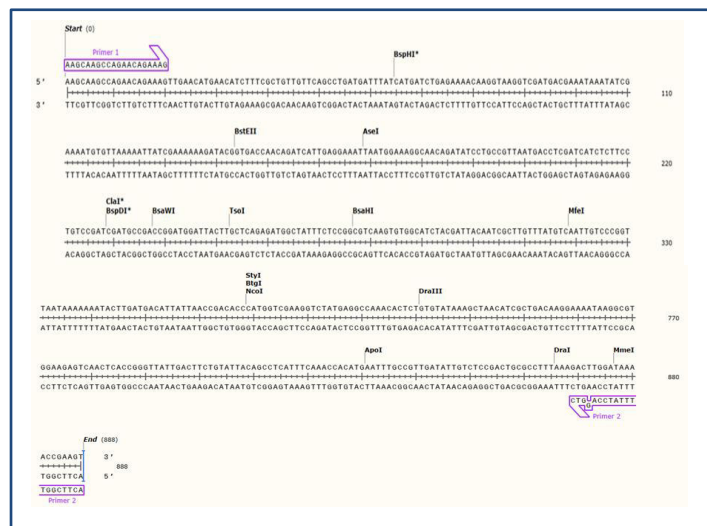


Figura 6. Aliación de los primers mediante el programa SnapGene.

Se amplificó el gen de la fosfohidrolasa mediante la técnica de amplificación por PCR. Las secuencias de cebadores específicas se muestran a continuación (Tabla 3).

Tabla 3: Secuencias de cebadores específicas para la identificación molecular de las cepas clínicas de *K. pneumoniae*

Gen objetivo	Primers	Primer Sequences (5' – 3') <sup>121</sup> .	Tamaño del amplicón
Gen de la fosfohidrolasa	Forward	AAGCAAGCCAGAACAGAAAG	888 pb
	Reverse	ACTTCGGTTTTTATCCAGGTC	

El volumen total de reacción por cada prueba de PCR fue de 20 µL en un tubo de PCR. La mezcla para cada reacción fue de 10 uL de Enzima Ready Mix, 0,8 uL de cada primer, 5,4 uL de Agua de grado de biología molecular y 3,0 µL de DNA. Para la amplificación, los tubos PCR se llevaron al termociclador Mastercycler® Nexus gradient, EPPENDORF; bajo las siguientes condiciones:

“1 ciclo de desnaturalización inicial 95°C por 5 minutos, 50 ciclos de: desnaturalización a 95°C por 1 minuto, alineamiento a 52°C por 1 minuto y elongación a 72°C por 2 minutos; y un ciclo de elongación final a 72°C por 10 minutos.”

#### 4.4.3.3 Electroforesis en gel de agarosa.

La presencia y el tamaño de los productos de PCR se analizaron mediante electroforesis, en gel de agarosa 1,5% en buffer TAE 1X, el gel fue teñido con 3 µg/mL de bromuro de etidio y separado en buffer 1X Trisácido acético-EDTA. La fuente de alimentación se ajustó a 100 voltios durante 80 minutos, y para la visualización de las bandas se utilizó un sistema documentador de geles (KODAK LOGIC 1500), donde se obtuvo un tamaño de amplicón de 888 pares de bases.

#### 4.4.4 Pruebas de susceptibilidad

Se utilizaron los resultados de susceptibilidad antimicrobiana de los reportes realizados por el Laboratorio de Microbiología del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, utilizando la técnica de difusión en agar (con discos) por cada cepa obtenida.



#### **4.4.5 Detección fenotípica de las bombas de eflujo**

La detección fenotípica de las bombas de eflujo de *K. pneumoniae* resistente a ciprofloxacino y amikacina se evaluó midiendo las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) para ambos antibióticos antes y después de la exposición a los inhibidores de la bomba de eflujo (EPI), cianuro de carbonilo 3-clorofenilhidrazona (CCCP) y Fenil-Arginina- $\beta$ -naftilamida (Pa $\beta$ N)<sup>114</sup>.

##### **4.4.5.1 Pruebas de CMI de ciprofloxacino y amikacina**

La CMI se determinó mediante el método de microdilución en caldo. Se prepararon tres botellas de 300 mL de caldo Mueller-Hinton, se autoclavó y pasaron por control de calidad durante 24-48 horas a 37°C. Luego se preparó el inóculo bacteriano, para ello se recogió una asada generosa de la placa de cultivo y se resuspendió en tubos estériles de 1,5 mL que contienen 1 mL de caldo Mueller-Hinton, se dejó en una incubadora con agitación a 37°C por 18 horas y a una velocidad de 100 RPM, se ajustó la turbidez similar al tubo 0,5 de la escala McFarland<sup>100,101</sup>.

Seguidamente se prepararon las soluciones de trabajo de los antimicrobianos, a partir de la solución stock. Se usaron los siguientes antimicrobianos: amikacina y ciprofloxacino, donde las concentraciones antibióticas fueron de:

“256 ug/mL, 128 ug/mL, 64 ug/mL, 32 ug/mL, 16 ug/mL, 8 ug/mL, 4 ug/mL, 2 ug/mL, 1 ug/mL, 0,5 ug/mL y 0,25 ug/mL<sup>115</sup>.”

Además, se usaron placas de 96 pocillos de la marca Corning, la columna 12 de la microplaca que no contenía antibiótico fue utilizado como control. Cada pocillo tenía 10  $\mu$ L del inóculo bacteriano y 100  $\mu$ L de los antibióticos diluidos y caldo Muller-Hinton. Finalmente, las placas fueron incubadas de 18 - 24 horas a 37°C, para luego ejecutar las lecturas correspondientes en un espectrofotómetro a 630 nm<sup>116</sup>.

#### 4.4.5.2 Pruebas CMI de ciprofloxacino y amikacina en combinación con los inhibidores

Para observar el cambio de susceptibilidad de los antibióticos en combinación con los inhibidores PaβN y CCCP (100 µg/mL). Se siguió el protocolo antes mencionado de CMI<sup>114</sup>. También se añadió 2 uL de la solución stock de los inhibidores (5 mg/mL) a la placa que contenía el el inoculo bacteriano<sup>117</sup>.

#### 4.4.6 Detección genotípica de genes de resistencia AcrAB de la bomba de eflujo

##### 4.4.6.1 Extracción del ADN bacteriano

La extracción del ADN bacteriano se realizó tomando una colonia de la placa de cultivo en agar BHI, utilizando un asa bacteriológica, y se resuspendió en un tubo eppendorf de 1.5mL, con 100 µL de agua de grado de biología molecular (tratada con DEPC, libre de nucleasas y proteasas). Luego ejecutó la extracción por calor en un termobloque a 100°C por 5 minutos y enseguida se centrifugó a 14 000 rpm por 5 minutos, para luego almacenar a -20°C<sup>99</sup>.

##### 4.4.6.2 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La presencia de la bomba de eflujo AcrAB en *K. pneumoniae*, se buscaron secuencias específicas para el gen AcrA. Posteriormente, las secuencias encontradas en artículos científicos se compararon en la herramienta “Basic Local Alignment Search Tool - Nucleotide (BLASTn)” (Figura 7 y 8), se alinearon con el programa SnapGene (Ver figura 9), y se mandaron a elaborar con el servicio de MacroGen-Korea.



Organism	Blast Name	Score
Enterobacteriaceae	enterobacteria	
- Escherichia	enterobacteria	
- . Escherichia coli	enterobacteria	40.1
- . Escherichia albertii	enterobacteria	40.1
- . Escherichia coli O15:H18	enterobacteria	40.1
- . Escherichia coli O7:H15	enterobacteria	40.1
- Enterobacter sp. Crenshaw	enterobacteria	40.1
- Shigella flexneri	enterobacteria	40.1
- Salmonella enterica subsp. enterica serovar Indiana	enterobacteria	40.1
- Salmonella enterica subsp. enterica serovar Kentucky	enterobacteria	40.1
- Salmonella enterica	enterobacteria	40.1
- Klebsiella pneumoniae	enterobacteria	40.1

Figura 7. BLASTn del primer AcrA-F: TGATGCTCTCAGGCAGCTTA.

Descriptions	Graphic Summary	Alignments	<b>Taxonomy</b>
<b>Reports</b>	<b>Lineage</b>	Organism	Taxonomy
100		Organism	Blast Name
		<a href="#">Klebsiella</a>	<a href="#">enterobacteria</a>
		• <a href="#">Klebsiella pneumoniae</a>	<a href="#">enterobacteria</a>

Figura 8. BLASTn del primer AcrA-R: GCCTGGATATCGCTACCTTC.

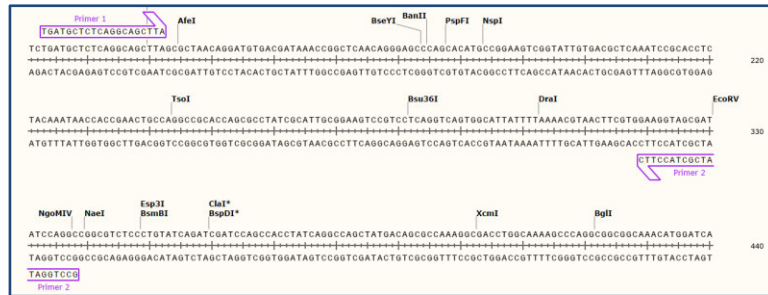


Figura 9. Alineación de los primers mediante el programa SnapGene.

Se amplificó el gen AcrA mediante la técnica de amplificación por PCR. Se utilizaron cebadores específicos para evaluar la presencia de la bomba de eflujo AcrAB en *K. pneumoniae* (Tabla 4).

Tabla 4: Secuencias de cebadores específicas para la detección de gene AcrA de la bomba de eflujo AcrAB de *K. pneumoniae*.

Gen objetivo	Primers	Primer Sequences (5' – 3') <sup>118,119</sup>	Tamaño del amplicón
AcrA	Forward	TGATGCTCTCAGGCAGCTTA	226 pb
	Reverse	GCCTGGATATCGCTACCTTC	

El volumen total de reacción por cada prueba de PCR fue de 20 µL en un tubo de PCR. La mezcla para cada reacción fue de 10 uL de Enzima Ready Mix, 0,8 uL de cada primer, 5.4 uL de agua de grado de biología molecular (tratada con DEPC, libre de nucleasas y proteasas) y 3,0 µL de DNA. Para la amplificación, los tubos PCR se llevaron al termociclador Mastercycler® Nexus gradient, EPPENDORF; bajo las siguientes condiciones:

“1 ciclo de desnaturalización inicial a 95°C por 5 minutos, 50 ciclos de: desnaturalización a 95°C por 1 minuto, alineamiento a 52°C por 1 minuto y elongación a 72°C por 2 minutos; y un ciclo de elongación final a 72°C por 10 minutos<sup>118</sup>.”

#### **4.4.3.3 Electroforesis en gel de agarosa.**

La presencia y el tamaño de los productos amplificados por PCR se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa 1.5% en buffer TAE 1X, el gel fue teñido con 3 µg/mL de bromuro de etidio y separado en buffer 1X Trisácido acético-EDTA. La fuente de alimentación se ajustó a 100 voltios durante 80 minutos, y para la visualización de las bandas se utilizó un sistema documentador de geles (KODAK LOGIC 1500), donde se obtuvo un tamaño de amplicón de 888 pares de bases<sup>119</sup>.

#### **IV.5. Análisis estadístico**

Los datos obtenidos se analizaron mediante estadística tipo descriptiva. A partir de los datos se evaluaron la asociación entre la cantidad de cepas resistentes y la presencia o ausencia de dichos genes de resistencia y se ordenaron en tablas y gráficos en el programa Microsoft Office Excel 2013 donde también se presentaron en frecuencia y porcentajes.

## V. RESULTADOS

### V.1. Presentación y análisis de los resultados

#### 5.1.1 Reactivación de cepas clínicas

Se reactivaron 67% (20/30) de las cepas clínicas de *Klebsiella pneumoniae*, en placas de agar BHI (Figura 10 y 11).

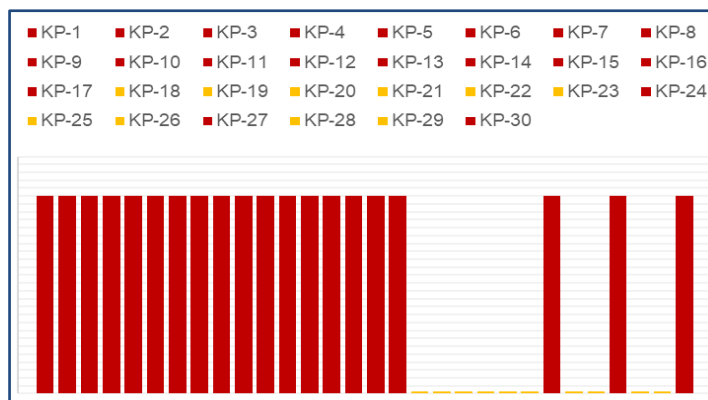


Figura 10. Resultado de las cepas clínicas reactivadas en agar BHI, cepas reactivadas en color rojo.

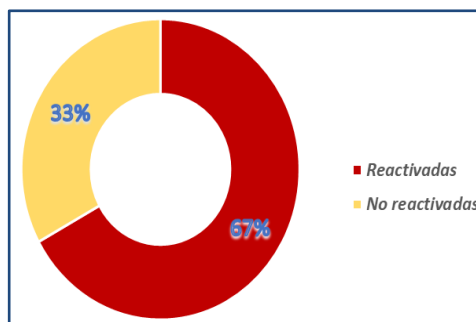


Figura 11. Porcentaje total de las cepas clínicas reactivadas (67%).

#### 5.1.2 Identificación molecular de las cepas clínicas

Para la identificación molecular de las cepas clínicas, se amplificó el gen de la fosfohidrolasa, mediante la técnica de amplificación por PCR convencional, confirmando la presencia de 16 cepas de *Klebsiella pneumoniae*, que corresponde al 80% del total de las cepas reactivadas. (Figura 12).

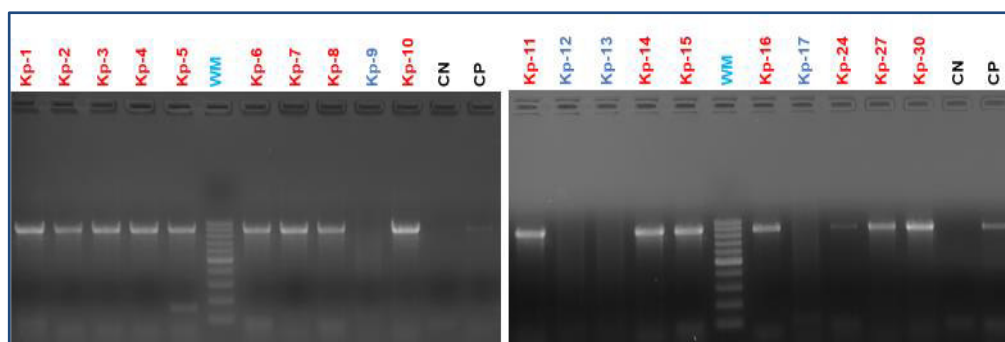


Figura 12. Electroforesis de PCR para identificación de *K. pneumoniae* (88 bp). **Muestras positivas:** KP-1, KP-2, KP-3, KP-4, KP-5, KP-6, KP-7, KP-8, KP-10, KP-11, KP-14, KP-15, KP-16, KP-24, KP-27, KP-30. **WM:** Ladder de 100 pb. **CN** (Control negativo). **CP** (Control positivo).

### 5.1.3 Pruebas de susceptibilidad

Los resultados de susceptibilidad antimicrobiana mostraron resistencia, resistencia intermedia y sensibilidad hacia antimicrobianos (Tabla 5 y Figura 13).

Tabla 5: Resultados de las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos entre los aislamientos de *K. pneumoniae*.

Antibiótico	Resistente	Intermedio	Sensible	No testado	Total
Gentamicina	16	0	0	0	16
Levofloxacino	4	3	9	0	16
Meropenem	16	0	0	0	16
Piperacilina / Tazobactam	15	1	0	0	16
Tigeciclina	0	4	4	8	16
Trimetoprim/sulfametoxazol	14	0	2	0	16
Amikacina	3	3	10	0	16
Amoxicilina/acido clavulanico	16	0	0	0	16
Ampicilina sulbactam	8	0	0	8	16
Imipenem	16	0	0	0	16
Aztreonam	8	0	0	8	16
Tobramicina	16	0	0	0	16
Cefepima	8	0	0	8	16
Cefotaxima	16	0	0	0	16
Ceftazidima	16	0	0	0	16
Cefuroxima	16	0	0	0	16
Ertapenem	16	0	0	0	16
Ciprofloxacino	15	1	0	0	16
Colistina	8	0	0	8	16
Fosfomicina	9	0	7	0	16

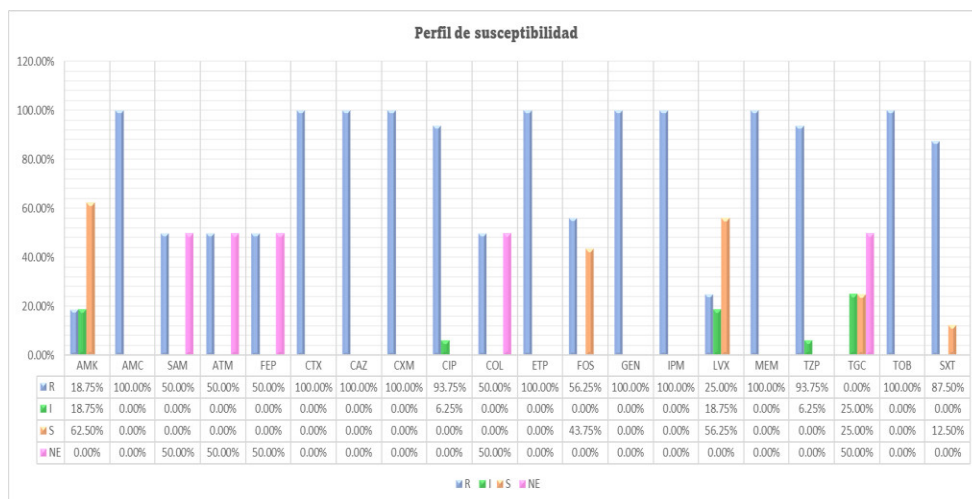


Figura 13. Perfil de susceptibilidad entre los aislamientos de *K. pneumoniae*.

En cuanto a los porcentajes, se tiene que **100%** (16/16) de las cepas en estudio resultaron resistentes a amoxicilina/ácido clavulánico, cefotaxima, ceftazidima, cefuroxima, ertapenem, gentamicina, imipenem, meropenem y tobramicina; **93,75%** (15/16) resistentes a ciprofloxacino y piperacillin/tazobactam; **87,5%** (14/16) resistente a trimetoprim/sulfametoxazol; **56,25%** (9/16) resistentes a fosfomicina; **50%** (8/16) resistente a ampicilina sulbactan, aztreonam, cefepima y colistina; **25%** (4/16) resistente a levofloxacino; **18,75%** (3/16) a amikacina.

También **25%** (4/16) reportaron resistencia intermedia hacia tigeciclina; **18,75%** (3/16) hacia amikacina y levofloxacino; **6,25%** (1/16) a piperacilina / tazobactam y ciprofloxacino.

Respecto a la sensibilidad, **62,50%** (10/16) fue sensible a amikacina; **56,25%** (9/16) a levofloxacino; **43,75%** (7/16) hacia fosfomicina; 25% (4/16) a tigeciclina y **12,50%** (2/16) a trimetoprim / sulfametoxazol.

#### 5.1.4 Detección fenotípica de las bombas de eflujo

Se realizó la detección fenotípica de las bombas de eflujo en *K. pneumoniae*, midiendo las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) para ciprofloxacino y amikacina, antes y después de la exposición a los inhibidores de la bomba de eflujo (EPI), cianuro de carbonilo 3-clorofenilhidrazona (CCCP) y fenil-arginina-β-naftilamida (PABN), de todas las cepas reactivadas (Tabla 6, 7 y 8) (Ver Anexo 03).

Tabla 6: Interpretación del perfil de susceptibilidad de las cepas de *K. pneumoniae* según las lecturas de la CMI.

N°	Código	MIC (µg/ml) (suceptibilidad para cada antibiótico)					
		Antibiótico		Antibiótico + PaβN		Antibiótico + CCCP	
		AK	CIP	AK	CIP	AK	CIP
1	KP-1	≤0.25 (S)	1 (R)	≤0.25 (S)	0.5 (I)	≤0.25 (S)	0.5 (I)
2	KP-2	2 (S)	128 (R)	2 (S)	64 (R)	4 (S)	128 (R)
3	KP-3	0.5 (S)	1 (R)	0.5 (S)	0 (S)	0.5 (S)	0.25 (S)
4	KP-4	1 (S)	0 (S)	0.5 (S)	0 (S)	0.5 (S)	0 (S)
5	KP-5	0.5 (S)	0.25 (S)	0.5 (S)	0.25 (S)	0.5 (S)	0.25 (S)
6	KP-6	0.25 (S)	0.5 (I)	2 (S)	0 (S)	16 (S)	0.25 (S)
7	KP-7	0.5 (S)	0.5 (I)	0.5 (S)	0.25 (S)	0.5 (S)	0.25 (S)
8	KP-8	0.5 (S)	8 (R)	0.25 (S)	2 (R)	1 (S)	2 (R)
9	KP-10	2 (S)	16 (R)	0.5 (S)	8 (R)	2 (S)	0.25 (S)
10	KP-11	2 (S)	0 (S)	0.5 (S)	0 (S)	1 (S)	0 (S)
11	KP-14	64 (R)	16 (R)	16 (S)	8 (R)	64 (R)	8 (R)
12	KP-15	0.5 (S)	4 (R)	1 (S)	0.5 (I)	8 (S)	1 (R)
13	KP-16	32 (I)	8 (R)	16 (S)	0.25 (S)	32 (I)	0.25 (S)
14	KP-24	8 (S)	32 (R)	4 (S)	8 (R)	16 (S)	8 (R)
15	KP-27	0.5 (S)	0.25 (S)	0.25 (S)	0.5 (I)	2 (S)	0 (S)
16	KP-30	16 (S)	8 (R)	0.5 (S)	4 (R)	8 (S)	0.25 (S)

Según el perfil de susceptibilidad de las 16 cepas identificadas como *K. pneumoniae*, las cepas KP (14 y 16) fueron resistentes a amikacina y las muestras KP(1, 2, 3, 6, 7, 8, 10, 14, 15, 16, 24 y 30) fueron resistentes a ciprofloxacino antes de la exposición a los inhibidores de bomba de eflujo (CCCP y PABN). Luego de la exposición al inhibidor PABN se observó un aumento de la susceptibilidad de las cepas clínicas resistentes a amikacina, en la cepa KP(14 y 16). Las cepas resistentes a ciprofloxacino KP-3, KP-6, KP-7 y KP16 fueron susceptibles con ambos inhibidores, por el contrario, KP-10 y KP-30 solo fueron susceptibles con CCCP.



Tabla 7: Cambios en la resistencia a amikacina entre los inhibidores de la bomba de eflujo (PABN y CCCP) en 16 aislados clínicos de *K. pneumoniae*

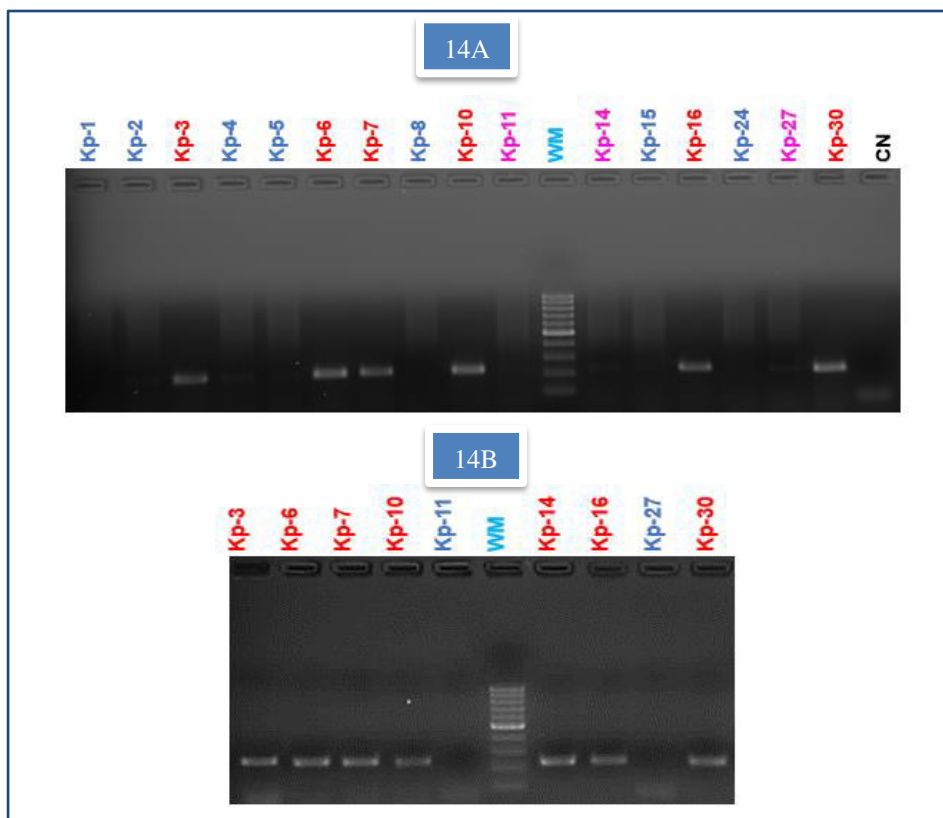
Cambios en la CMI	PABN		CCCP	
	Numero de muestras	Porcentaje (%)	Numero de muestras	Porcentaje (%)
≥4 veces – Reducción	1	6.25	0	0
≤3 veces – Reducción	9	56.25	3	18.75
Sin cambio	5	31.25	7	43.75
≥4 veces – Incremento	0	0	4	25
≤3 veces – Incremento	1	6.25	2	12.5
<b>Total</b>	<b>16</b>	<b>100</b>	<b>16</b>	<b>100</b>

Tabla 8: Cambios en la resistencia a ciprofloxacino entre los inhibidores de la bomba de eflujo (PABN y CCCP) en 16 aislados clínicos de *K. pneumoniae*

Cambios en la CMI	PABN		CCCP	
	Numero de muestras	Porcentaje (%)	Numero de muestras	Porcentaje (%)
≥4 veces – Reducción	3	18.75	3	18.75
≤3 veces – Reducción	10	62.5	9	56.25
Sin cambio	3	18.75	4	25
≥4 veces – Incremento	0	0	0	0
≤3 veces – Incremento	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>16</b>	<b>100</b>	<b>16</b>	<b>100</b>

#### 4.4.6 Detección del gen de resistencia de la bomba de eflujo AcrAB

Se amplificó el gen AcrA para la identificación molecular de los genes de resistencia de la bomba de eflujo en *Klebsiella pneumoniae* (Figura 14).



**Figura 14A.** Electroforesis de PCR para el gen AcrA de 226 pb. positivos: KP-3, KP6, KP-7, KP-10, KP16, KP-30. Bandas flojas: KP-11, KP-14 y KP-27. Pocillo 11: Ladder de 100 pares de bases.

**Figura 14B.** Repetición de la electroforesis de PCR para el gen AcrA de 226 pb, de las bandas positivas y las bandas flojas. KP-3, KP6, KP-7, KP-10, KP-14, KP-16, KP-30: aislados de *Klebsiella pneumoniae* positivas para gen. Pocillo 6: Ladder de 100 pares de bases.

## VI. DISCUSIÓN

*K. pneumoniae* es un patógeno gramnegativo, que representa un desafío global, porque causa graves infecciones nosocomiales y adquiridas en la comunidad, como: meningitis, infecciones respiratorias y urinarias, bacteriemia y septicemia<sup>114</sup><sup>120</sup>; y además, tiene la capacidad de resistir a tratamientos con diferentes tipos de antibióticos, como fluoroquinolonas, aminoglucósidos, carbapenémicos, etc<sup>115</sup><sup>121</sup>.

La identificación de *K. pneumoniae*, mediante pruebas bioquímicas, no ha tenido éxito, debido a que muchas de las especies de su género comparten perfiles bioquímicos similares<sup>116</sup><sup>122</sup>. Algunos autores han afirmado que una de las características principales de *K. pneumoniae* es la fermentación de adenitol<sup>117</sup><sup>123</sup>. Sin embargo; se han reportado cepas clínicas de *K. variicola* fermentadoras de adenitol<sup>118</sup><sup>124</sup> y por lo contrario, algunas cepas clínicas de *K. pneumoniae* no son fermentadoras de adenitol<sup>119</sup><sup>125</sup>. En tal contexto, las características bioquímicas de las cepas clínicas de *K. pneumoniae* son variables, y la identificación correcta sólo puede realizarse mediante pruebas moleculares<sup>120</sup><sup>126</sup>. En el presente estudio, la identificación de *K. pneumoniae* se realizó mediante la PCR convencional, se amplificó un gen metabólico único y exclusivo identificado en *K. pneumoniae*, los primers KP888-F y KP888-R amplificaron un fragmento del gen que codifica la proteína fosfohidrolasa<sup>121</sup><sup>127</sup>, con el método descrito se confirmó que 67% de las cepas clínicas fueron positivas para *K. pneumoniae*.

En los últimos años se han reportado altas tasas de resistencia en cepas clínicas de *K. pneumoniae*. Diaz P.<sup>122</sup><sup>128</sup> *et al.*,. investigaron la susceptibilidad de 100 cepas clínicas de *K. pneumoniae*, frente a gentamicina, amikacina y ciprofloxacina, mediante CMI, encontrando 65% de cepas resistentes a gentamicina, 47 % resistentes a amikacina y 29% resistentes a la ciprofloxacino. Kareem S.,<sup>123</sup><sup>129</sup> evaluó la resistencia en 43 aislamientos bacterianos de *K. pneumoniae* entre junio y diciembre de 2019, de estos aislamientos; 27 (62,8%) cepas fueron resistentes a ciprofloxacino, y 21 (48,8%) cepas presentaron resistencia moderada hacia amikacina.

En el estudio actual estudio, las pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos fueron similares a los estudios anteriormente mencionados, pues se observó resistencia a ciprofloxacino y amikacina en 15 (93,75%) y 3 (18,75%) aislados clínicos respectivamente, de *K. pneumoniae*. Sin embargo, en el estudio actual el perfil de resistencia fue mayor para ciprofloxacino, a comparación de otros estudios, lo cual puede deberse al tamaño de muestra, tipo de muestra, año de recolección de las muestras, lugar de recolección y distribución geográfica de la resistencia en el mundo, y otros factores<sup>124.130</sup>.

Por otro lado, Ruowen H.,<sup>125.131</sup> determinó las susceptibilidades a tetraciclina, cloranfenicol, ciprofloxacina, aztreonam, cefepima, ceftazidima, gentamicina, amikacina, cefotaxima, trimetoprim-sulfametoxazol, imipenem y meropenem; las cepas fueron resistentes a todos los antibióticos mencionados, a excepción de trimetoprima-sulfametoxazol, colistina y carbapenémicos. Según este estudio y otras investigaciones, se han informado tasas altas de susceptibilidad hacia colistina. Por tal motivo, diferentes autores han reportado que este antibiótico puede ser un buen candidato terapéutico para el tratamiento de *K. pneumoniae* multidrogoresistente<sup>126.132, 124.130</sup>. Sin embargo, es necesario seguir investigando, debido a las reacciones adversas que puede provocar; y además, es necesario estudiar las nuevas cepas emergentes, para reconocer los futuros mecanismos de resistencia a colistina.

La mutación en su proteína diana; la expresión de enzimas (topoisomerasa IV y ADN girasa), la presencia de determinantes mediada por plásmidos, la expresión de los genes de resistencia de la bomba de eflujo y las alteraciones en la permeabilidad de la membrana celular, son mecanismos involucrados en la resistencia hacia los antimicrobianos en *K. pneumoniae*<sup>127.133, 128.134</sup>. Las bombas de eflujo son parte de la membrana celular de la bacteria, e intervienen en la extrusión de antibióticos<sup>129.135</sup>, La cual presenta cinco estructuras en la membrana interna, clasificados según la secuencia de aminoácidos y la fuente de energía utilizada<sup>130.136</sup>, en; el cassette de unión a ATP (ABC), la superfamilia facilitadora principal (MFS), la extrusión de múltiples fármacos y toxinas (MATE), familias pequeñas de resistencia a

múltiples fármacos (SMR) y la división de células de resistencia-nodulación (RND)<sup>131.137</sup>. En *K. pneumoniae* la bomba de eflujo RND, una de las superfamilias más grandes<sup>132.138</sup>, es una bomba tripartita de eflujo multifarmaco que atraviesa la membrana externa e interna, y está compuesto por el complejo AcrAB-TolC<sup>133.139.134.140</sup>. En tal contexto, las fuentes científicas indican que la bomba de eflujo AcrAB, funciona en el proceso de extrusión de múltiples fármacos, contribuyendo a la resistencia antimicrobiana<sup>135.141</sup>.

Para realizar la detección fenotípica de la bomba de eflujo AcrAB en *K. pneumoniae* en la propiedad de resistencia a los antimicrobianos, se han utilizado inhibidores como PAβN o CCCP<sup>136.142</sup>. En este contexto, en el estudio actual se midieron las CMI para ciprofloxacino y amikacina, antes y después de la exposición a los inhibidores antes mencionados. De tal modo en los 16 aislados clínicos, se observó reducción de la CMI de 2 a 8 veces, y de 2 a 6 veces al añadir ciprofloxacino más el inhibidor CCCP y PAβN, respectivamente. Por lo contrario, al añadir amikacina más el inhibidor CCCP y PAβN, se observó reducción de la CMI hasta 2 veces, y de 2 a 6 veces, respectivamente. Estos resultados podrían predecir el papel de las bombas de eflujo en la resistencia de *K. pneumoniae* frente a ciprofloxacino y amikacina, ya que se observa una reducción de las MIC al añadir los inhibidores de la bomba de eflujo (CCCP y PAβN).

Los resultados del presente trabajo, en la reducción de CMI después de usar inhibidores (CCCP y PAβN), coinciden con otros resultados. Pakzad *et al.*<sup>137.143</sup> evaluó 95% de cepas resistentes a ciprofloxacino, de las cuales 47,5% de los aislamientos resistentes a ciprofloxacina mostraron una reducción de 2 a 32 veces en las CMI de ciprofloxacina después de usar el inhibidor CCCP. Razavi *et al.*<sup>138.144</sup>, reportó una disminución de la CMI de 2 a 16 veces, de ese modo aumentó la sensibilidad de 21 aislados a ciprofloxacina. Por otro lado, Hasdemir *et al.*<sup>136.142</sup>, obtuvo una disminución significativa en la MIC de ciprofloxacino con el inhibidor de la bomba de expulsión PAβN, en 39% de los aislamientos clínicos en Turquía. De acuerdo a estos hallazgos, estudios previos han reportado aumento en las

susceptibilidades, después del tratamiento de ciprofloxacino con los inhibidores de la bomba de CCCP y PA $\beta$ N<sup>139,145,140,146,141,147</sup>. También se han reportado en estudios científicos, una reducción en la CMI de antibióticos, incluida amikacina, después de usar inhibidores de la bomba de eflujo, CCCP y PA $\beta$ N<sup>142,148,143,149,144,150</sup>. La unión de los inhibidores de la bomba de eflujo, CCCP y PA $\beta$ N, restringen la actividad de AcrAB, mediante un mecanismo llamado “dinámica alterada” de esa manera se potencia la actividad de antibiótico al obstruir la translocación de sustratos en lugar de prevenir su unión y reconocimiento<sup>145,151</sup>.

En el presente estudio se observó la presencia del gen *acrA* en cepas de *K. pneumoniae* resistentes a amikacina. Sin embargo, Rafal *et al.*<sup>146,152</sup>, realizó la detección molecular de la bomba de eflujo *acrA* mediante técnica de PCR convencional, y posteriormente evaluó la expresión génica de la bomba de eflujo *AcrA* mediante el uso de RT-PCR cuantitativa, este fue el primer estudio que utilizó la exposición con Amikacina y determinó su efecto sobre la expresión génica de la bomba de eflujo *AcrAB* en cepas clínicas de *K. pneumoniae*, reportando un aumento y disminución de la expresión génica de *AcrAB* después de la exposición con Amikacina, en los aislados sensibles y resistentes, respectivamente. Estos hallazgos indican que los aislados resistentes pueden tomar otros mecanismos de resistencia, como otras bombas de eflujo o la producción de enzimas modificadoras de aminoglucósidos<sup>147,153,148,154</sup>.

En tal contexto, Mazzario<sup>96</sup> *et al.*, informó una correlación entre la susceptibilidad reducida a ciprofloxacino y la sobreexpresión de *AcrA* en varias cepas clínicas de *K. pneumoniae* resistentes a las quinolonas. Schneiders *et al.*<sup>149,155</sup>, reportó un aumento de la expresión de la bomba de salida de *AcrAB* en 19 cepas de *K. pneumoniae* resistentes a las fluoroquinolonas que fue causado por mutaciones en el represor *AcrAB*, *AcrR*, o por la sobreexpresión del regulador transcripcional *RamA*.

Según Koshnood *et al.*<sup>40</sup>, la PCR de 117 aislados clínicos de *K. pneumoniae*, reportó 110 (94%) cepas positivas para el gen *acrA* de la bomba de eflujo *AcrAB*. Los resultados de Pakzad *et al.*<sup>137,143</sup>, mostraron el rol de la bomba

de eflujo AcrAB en 52 aislados clínicos de *K. pneumoniae*, mediante la PCR reportó el gen *acrA* en 100% de cepas resistentes a ciprofloxacino. Además, los resultados reportados por Razavi *et al.*<sup>138.144</sup>, mostraron la alta prevalencia de los genes *acrA/acrB* en 20 aislados clínicos resistentes a ciprofloxacino.

En el presente estudio se confirmó la presencia de los genes de resistencia de las bombas de eflujo, mediante pruebas moleculares. A diferencia de los estudios previos, en estudio actual se observó la presencia del gen *acrA* en 7 (43,75%) cepas clínicas identificadas como *K. pneumoniae*. Además, las cepas KP1 y KP14, resistentes a ciprofloxacino, al añadir los inhibidores de la bomba de eflujo, se evidenciaron una disminución en la CMI, pasando de ser resistente (R) a susceptible (S). Sin embargo, al realizar la detección molecular no se observó la presencia del gen *ArcA*. Considerando lo mencionado en las fuentes científicas, para confirmar la presencia de la bomba de eflujo AcrAB (RND,) es necesario realizar experimentos con más de un gen que codifique para la bomba de eflujo AcrAB. Además, se ha reportado que la presencia de genes en las bombas de eflujo OqxAB y AcrAB son las razones del alto nivel de resistencia en *K. pneumoniae*<sup>138.144</sup>.

## VII. CONCLUSIONES

1. “En el presente estudio, se realizó la identificación molecular mediante PCR convencional, para lo cual se utilizó un gen metabólico único y exclusivo para la especie, de esta manera se logró identificar 16 cepas clínicas de *K. pneumoniae*.”
2. 93.75 % (15/16) de cepas fueron resistentes a ciprofloxacino, y 18.75% (3/16) resistentes a amikacina.
3. En la detección fenotípica de las bombas de eflujo, se observó una reducción de la CMI de 2 a 8 veces, y de 2 a 6 veces al añadir ciprofloxacino más el inhibidor CCCP y PA $\beta$ N, respectivamente. Por lo contrario, se observó reducción de la CMI hasta 2 veces, y de 2 a 6 veces, al añadir amikacina más el inhibidor CCCP y PA $\beta$ N. Prediciendo el papel de la bomba de eflujo en la resistencia de *K. pneumoniae* frente a ciprofloxacino y amikacina.
4. Se determinó la prevalencia de la bomba de eflujo AcrAB, reportándose la presencia del gen de resistencia *acrA* en el 43,75% (7/16) de cepas clínicas identificadas molecularmente como *K. pneumoniae*.



## VIII. RECOMENDACIONES

Los hallazgos del presente estudio revelan que las bombas de eflujo son un importante mecanismo de resistencia a múltiples fármacos; en ese sentido, se deben considerar las pruebas fenotípicas y genotípicas de las bombas de eflujo como una alternativa para detectar nuevas cepas resistentes a los antibióticos en laboratorios, y luego los resultados deben informarse a los médicos para que pueda prescribir correctamente algún antibiótico. También es importante que la información actual pueda llegar al personal de salud en su conjunto.

“Además, se recomienda tomar las medidas necesarias para evitar la diseminación de estas cepas resistentes a múltiples fármacos.”

Es necesario realizar experimentos con más de un gen que codifique para la bomba de eflujo AcrAB, ya que se ha reportado la presencia de genes de resistencia en las bombas de eflujo OqxAB y AcrAB *K. pneumoniae*.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wyres K, Lam M, Holt K. Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. Nat Rev Microbiol. 2020; 18: 344–359. doi: 10.1038/s41579-019-0315-1.
2. Effah C, Sun T, Liu S, Wu Y. *Klebsiella pneumoniae*: an increasing threat to public health. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2020; 19: 1–9. doi: 10.1186/s12941-019-0343-8.
3. Martin R, Bachman M. Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. Front Cell Infect Microbiol. 2018; 8: 4. doi: 10.3389/fcimb.2018.00004.
4. Seifi K, Kazemian H, Heidari H, Rezagholizadeh F, Saeed Y, Shirvani F, et al. Evaluation of Biofilm Formation Among *Klebsiella pneumoniae* Isolates and Molecular Characterization by ERIC-PCR. Jundishapur J Microbiol. 2016; 9(1): 30. doi: 10.5812/jjm.30682.
5. Shon A, Bajwa R, Russo T. Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: a new and dangerous breed. Virulence. 2013; 4(2): 107-118. doi: 10.4161/viru.22718.
6. Su S, Siu L, Ma L, Yeh K, Fung C, Lin J, et al. Community-acquired liver abscess caused by serotype K1 *Klebsiella pneumoniae* with CTX-M-15-type extended-spectrum beta-lactamase. Antimicrob Agents Chemother. 2008; 52(2): 4-5. doi: 10.1128/AAC.01269-07.
7. Nirwati H, Sinanjung K, Fahrurrisa F, Wijaya F, Napitupulu S, Hati V, et al. Biofilm formation and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical samples in a tertiary care hospital, Klaten, Indonesia. BMC Proc. 2019; 16(11): 20. doi: 10.1186/s12919-019-0176-7.
8. Juan C, Huang Y, Lin Y, Yan T, Wang F. Risk Factors, Outcomes, and Mechanisms of Tigecycline-Nonsusceptible *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia. Antimicrob Agents Chemother. 2016; 60(12): 57-63. doi: 10.1128/AAC.01503-16.
9. Chang L, Bastian I, Warner M. Survey of *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia in two South Australian hospitals and detection of hypermucoviscous phenotype and magA/rmpA genotypes in *K. pneumoniae* isolates. Infection. 2013; 41(2): 59-63. doi: 10.1007/s15010-012-0374-y.

10. Meatherall B, Gregson D, Ross T, Pitout J, Laupland K. Incidence, risk factors, and outcomes of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. *Am J Med.* 2009; 122(9): 66-73. doi: 10.1016/j.amjmed.2009.03.034.
11. Resurrección C, Montenegro J, Chiappe A, Gonzales A, Vargas R, Cucho C, *et al.* *Klebsiella pneumoniae* nueva Delhi metalo-betalactamasa en el hospital nacional Dos de Mayo. Lima, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2017; 34(2): 61–67. doi: 10.17843/rpmesp.2017.342.2615.
12. Buendia M, Morales S, Coca J, Santos L. Características clínicas y microbiológicas de infecciones por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa MBL, tipo NDM, Hospital Geriátrico San Isidro Labrador EsSalud, 2018. *Horiz Med.* 2020; 20(2): 15-22. doi: 10.24265/horizmed.2020.v20n2.04.
13. Nikaido H, Pagès J. Broad-specificity efflux pumps and their role in multidrug resistance of Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol Rev.* 2012; 36(2): 40-63. doi: 10.1111/j.1574-6976.2011.00290.x.
14. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2003; 67(4): 593-656. doi: 10.1128/mnbr.67.4.593-656.2003.
15. Pages J, Lavigne J, Leflon V, *et al.* Efflux pump, the masked side of beta-lactam resistance in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. *PLoS One.* 2009; 4(3): 8-17. doi: 10.1371/journal.pone.0004817.
16. Bonomo R, Szabo D. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2006; 43(2): 49–56. doi: 10.1086/504477.
17. De Majumdar S, Yu J, Fookes M, McAteer S, Llobet E, Finn S, *et al.* Elucidation of the RamA regulon in *Klebsiella pneumoniae* reveals a role in LPS regulation. *PLoS Pathog.* 2015; 11(1): 25-27. doi: 10.1371/journal.ppat.1004627.
18. Wilkens S. Structure and mechanism of ABC transporters. *Prime Rep.* 2015; 7(1): 14. doi: 10.12703/P7-14.
19. Lekshmi M, Ammini P, Adjei J, *et al.* Modulation of antimicrobial efflux pumps of the major facilitator superfamily in *Staphylococcus aureus*. *AIMS Microbiology.* 2018; 4(1): 1-18. doi: 10.3934/microbiol.2018.1.1.

20. Klenotic P, Moseng M, Morgan C, Yu E. Structural and functional diversity of RND transporters. *Chem Rev.* 2021; 121(9): 53-54. doi: 10.1021/acs.chemrev.0c00621.
21. Li D, Onishi M, Kishino T, Matsuo T, Ogawa W, Kuroda T, *et al.* Properties and expression of a multidrug efflux pump AcrAB-KocC from *Klebsiella pneumoniae*. *Biol Pharm Bull.* 2008; 31(4): 57-58. doi: 10.1248/bpb.31.577.
22. Veleba M, Higgins P, Gonzalez G, Seifert H, Schneiders T. Characterization of RarA, a novel AraC family multidrug resistance regulator in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012; 56(8): 50-58. doi: 10.1128/AAC.00456-12.
23. Coudeyras S, Nakusi L, Charbonnel N, Charbonnel N, Forestier C. A tripartite efflux pump involved in gastrointestinal colonization by *Klebsiella pneumoniae* confers a tolerance response to inorganic acid. *Infect Immun.* 2008; 76(10): 33-41. doi: 10.1128/IAI.00356-08.
24. Ogawa W, Onishi M, Ni R, Tsuchiya T, Kuroda T. Functional study of the novel multidrug efflux pump KexD from *Klebsiella pneumoniae*. *Gene.* 2012; 498(2): 77–182. doi: 10.1016/j.gene.2012.02.008.
25. Nikaido H, Takatsuka Y. Mechanisms of RND multidrug efflux pumps. *Biochim Biophys Acta.* 2009; 1794(5): 69–81. doi: 10.1016/j.bbapap.2008.10.004.
26. Naparstek L, Carmeli Y, Chmelnitsky I, Banin E, Navon S. Reduced susceptibility to chlorhexidine among extremely-drug-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae*. *J Hosp Infect.* 2012; 81(1): 15–19. doi: 10.1016/j.jhin.2012.02.007.
27. Ruiz E, Sáenz Y, Zarazaga M, Rocha R, Martínez L, Arlet G, *et al.* qnr, aac(6')-Ib-cr and qepA genes in *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.*: genetic environments and plasmid and chromosomal location. *J Antimicrob Chemother.* 2012; 67(4): 86–97. doi: 10.1093/jac/dkr548.
28. Hauck C, Cober E, Richter S, Perez F, Salata R, Kalayjian R, *et al.* Spectrum of excess mortality due to carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections. *Clin Microbiol Infect.* 2016; 22(6): 9-13. doi: 10.1016/j.cmi.2016.01.023.

29. Van D, Doi Y. The global epidemiology of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Virulence* 2017; 8(4): 60–69. doi: 10.1080/21505594.2016.1222343.
30. Tadesse B, et al. Antimicrobial resistance in Africa: a systematic review. *BMC Infect Dis* 2017; 17(1): 616. doi: 10.1186/s12879-017-2713-1.
31. Organización Mundial de la Salud. Informe OMS sobre la resistencia a antibióticos. Altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo [Internet]. Ginebra: OMS; 2018. [Citado 15 de julio 2021]. Disponible en: [http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018\\_antibiotic-resistance-found/es/](http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018_antibiotic-resistance-found/es/).
32. Macalupú S. Situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Candida* en Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2018; 35(1): 126–131. doi: 10.17843/rpmesp.2018.351.3563.
33. Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella spp.* as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev*. 1998; 11(4): 589–603. doi: 10.1128/CMR.11.4.589.
34. Lupande D, Baron S, Nabti L, Lunguya O, Lavigne J, Rolain J, et al. Current status of resistance to antibiotics in the Democratic Republic of the Congo: A review. *J Glob Antimicrob Resist*. 2020; 22(1): 818–825. doi: 10.1016/j.jgar.2020.07.008.
35. Tan X, Kim H, Baugh K, Huang Y, Kadiyala N, Wences M, et al. Therapeutic Options for Metallo- $\beta$ -Lactamase Producing Enterobacterales. *Infect Drug Resist* 2021; 14: 125-142. doi: 10.2147/IDR.S246174.
36. Bialek S, Criscuolo A, Ailloud F, Passet V, Jones L, Delannoy A, et al. Genomic definition of hypervirulent and multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* clonal groups. *Emerg Infect Dis*. 2014; 20(11): 12–1820. doi: 10.3201/eid2011.140206
37. Founou R, Founou L, Essack. Clinical and economic impact of antibiotic resistance in developing countries: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2017; 12(12): 21. doi: 10.1371/journal.pone.0189621.
38. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Pulcini C, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis*. 2018; 18(3): 318-327. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30753-3.

39. Xu Q, Sheng Z, Hao M, Jiang J, Ye M, Chen Y, *et al.* RamA upregulates multidrug resistance efflux pumps AcrAB and OqxAB in *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Antimicrob Agents*. 2021; 57(2): 106-251. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.106251
40. Khoshnood S, Heidary M, Hashemi A, Shahi F, Saki M, Kouhsari E, *et al.* Involvement of the AcrAB Efflux Pump in Ciprofloxacin Resistance in Clinical *Klebsiella Pneumoniae* Isolates. *Infect Disord Drug Targets*. 2021; 21(4): 564-571. doi: 10.2174/1871526520999200905121220.
41. Jallon J, Risler Y, Iwatsubo M. Beef liver L-Glutamate dehydrogenase mechanism: presteady state study of the catalytic reduction of 2-oxoglutarate by NADPH. *Biochem Biophys Res Commun*. 1975; 67(5): 1527–1536. doi: 10.1016/0006-291x(75)90200-4.
42. Padilla E, Llobet E, Doménech A, Martínez L, Bengoechea J, Albertí S. *Klebsiella pneumoniae* AcrAB efflux pump contributes to antimicrobial resistance and virulence. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010; 54(1): 177–183. doi: 10.1128/AAC.00715-09.
43. Wong M, Chan E, Chen S. Evolution and dissemination of OqxAB-like efflux pumps, an emerging quinolone resistance determinant among members of Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015; 59(6): 3290–3297. doi: 10.1128/AAC.00310-15.
44. Osei J, Govinden U, Bester L, Essack S. Colistin and tigecycline resistance in carbapenemase-producing Gram-negative bacteria: emerging resistance mechanisms and detection methods. *J Appl Microbiol*. 2016; 121(3): 601–617. Doi: 10.1111/jam.13169.
45. Nielsen L, Snesrud E, Onmus F, Kwak Y, Avilés R, Steele E, *et al.* IS5 Element Integration, a Novel Mechanism for Rapid In Vivo Emergence of Tigecycline Nonsusceptibility in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014; 58(10): 6151–6156. doi: 10.1128/AAC.03053-14.
46. Li R, Han Y, Zhou Y, Du Z, Wu H, Wang J, Chen Y. Tigecycline Susceptibility and Molecular Resistance Mechanisms Among Clinical *Klebsiella pneumoniae* Strains Isolated During Non-Tigecycline Treatment. *Microb Drug Resist*. 2017; 23(2): 139-146. doi: 10.1089/mdr.2015.0258.

47. Xu Q, Jiang J, Zhu Z, Xu T, Sheng Z, Ye M, *et al.* Efflux pumps AcrAB and OqxAB contribute to nitrofurantoin resistance in an uropathogenic *Klebsiella pneumoniae* isolate. *Int J Antimicrob Agents*. 2019; 54(2): 223-227. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2019.06.004.
48. Zhong X, Hongtao Xu H, Chen D, Zhou H, Hu X, Cheng G. First emergence of acrAB and oqxAB mediated tigecycline resistance in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* pre-dating the use of tigecycline in a Chinese hospital. *PLoS One*. 2014; 9(12): 117-185. doi: 10.1371/journal.pone.0115185.
49. De Angelis G, Del Giacomo P, Posteraro B, Sanguinetti M, Tumbarello M. Molecular Mechanisms, Epidemiology, and Clinical Importance of  $\beta$ -Lactam Resistance in Enterobacteriaceae. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(14): 50-90. doi: 10.3390/ijms21145090.
50. Wang G, Zhao G, Chao X, Xie L, Wang H. The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Environ Res Public Health*. 2020; 17(17): 62-78. doi: 10.3390/ijerph17176278
51. Lovleva A, Doi Y. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. *Clin Lab Med*. 2017; 37 (2): 303-315. doi: 10.3390/ijerph17176278.
52. Martínez J, Martínez L, Rosenblueth M, Silva, Martínez E. How are gene sequence analyses modifying bacterial taxonomy?: The case of *Klebsiella*. *Int Microbiol*. 2004; 7(4): 261–268.
53. Integrated Taxonomic Information System [Internet]. USA; 2021 [cited 24 may 2022]. Available from: [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=9751#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=9751#null)
54. National Library of Medicine [Internet]. Etymologia: *Klebsiella*. *Emerg Infect Dis* 2010; 16: 1418.
55. Gomez A, Uhlemann A. Clinical Implications of Genomic Adaptation and Evolution of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. *J Infect Dis* 2017; 215(1): 18-27. doi: 10.1093/infdis/jiw378.
56. Wyres K, Lam M, Holt K. *Population genomics* of *Klebsiella pneumoniae*. *Nat Rev Microbiol*. 2022; 18(6): 344-359. doi: 10.1038/s41579-019-0315-1.
57. Gowsiya S, Sujatha N, Santosh K. Medicinal plants as source of antibacterial agents to counter *Klebsiella pneumoniae*. *J Basic Appl Pharm Sci*. 2014; 4(1): 135–147. doi: 10.7324/JAPS.2014.40123.

58. ResearchGate [Internet]. Berlín: 2020. *Klebsiella pneumonia* growth on macconkey agar medium [Cited 28 Jul 2022]. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/331651018\\_Klebsiella\\_pneumonia\\_growth\\_on\\_macconkey\\_agar\\_medium](https://www.researchgate.net/publication/331651018_Klebsiella_pneumonia_growth_on_macconkey_agar_medium)
59. Prats G. Microbiología y parasitología médica [Internet]. 3 ed. México: Med Panamericana; 2012. [Cited 28 jul 2022]. Available from: [https://books.google.com/books/about/Microbiolog%C3%ADa\\_y\\_parasitolog%C3%ADa\\_m%C3%A9dica.html?hl=es&id=Nlego0fDRUQC](https://books.google.com/books/about/Microbiolog%C3%ADa_y_parasitolog%C3%ADa_m%C3%A9dica.html?hl=es&id=Nlego0fDRUQC)
60. Herridge W, Shibu P, O'Shea J, Brook T, Hoyles L. Bacteriophages of spp., their diversity and potential therapeutic uses. *J Med Microbiol*. 2020; 69(2): 176–194. doi: 10.1099/jmm.0.001141.
61. Bagley S. Habitat association of *Klebsiella* species. *Infect Control*. 1985; 6(2): 52–58. doi: 10.1017/s0195941700062603.
62. Piperaki E, Syrogiannopoulos G, Tzouvelekis L, Daikos G. *Klebsiella pneumoniae*: Virulence, Biofilm and Antimicrobial Resistance. *Pediatr Infect Dis J*. 2017; 36(10): 1002-1005. doi: 10.1097/INF.0000000000001675.
63. Ofek I, Doyle R. Bacterial Adhesion to Cells and Tissues. Britania: 1994. *Google Books*. (Citado el 25 de mayo del 2022). Disponible en: [https://books.bacterial\\_Adhesion\\_to\\_Cells\\_and\\_Tissues.html?hl=es&id=AJ](https://books.bacterial_Adhesion_to_Cells_and_Tissues.html?hl=es&id=AJ)
64. Ottow J. Ecology, physiology, and genetics of fimbriae and pili. *Annu Rev Microbiol*. 1975; 29(1): 79-108. doi: 10.1146/annurev.100175.000455.
65. Li G, Sun S, Zhao Z, Sun Y. The pathogenicity of rmpA or aerobactin-positive *Klebsiella pneumoniae* in infected mice. *J Int Med Res*. 2019; 47(9): 4344-4352. doi: 10.1177/0300060519863544.
66. Simoons M, Verweij A, MacLaren D. The role of K antigens as virulence factors in *Klebsiella*. *J Med Microbiol*. 1986; 21(2): 133-137. doi: 10.1099/00222615-21-2-133.
67. Clarke B, *et al*. Molecular basis for the structural diversity in serogroup O2-antigen polysaccharides in *Klebsiella pneumoniae*. *J Biol Chem*. 2018; 293(13): 4666-4679. doi: 10.1074/jbc.RA117.000646.
68. Follador R, Ernst C, Heinz E, Wyres K, Ellington M, Kowarik M, Holt M, *et al*. The diversity of *Klebsiella pneumoniae* surface polysaccharides. *Microb Genom*. 2016; 2(8): 64-73. doi: 10.1099/mgen.0.000073.



69. Ernst C, Braxton J, Rodriguez C, Zagieboylo, Li L, Pironti A, *et al.* Adaptive evolution of virulence and persistence in carbapenem-resistant *K. pneumoniae*. *Nat Med.* 2020; 26(5): 705. DOI: 10.1038/s41591-020-0825-4.
70. Caneiras C, Lito L, Melo J, Duarte A. Community- and Hospital-Acquired *Klebsiella pneumoniae* Urinary Tract Infections in Portugal: Virulence and Antibiotic Resistance. *Microorganisms.* 2019; 7(5): 138. doi: 10.3390/microorganisms7050138.
71. Cillóniz C, Dominedò C, Torres A. Multidrug Resistant Gram-Negative Bacteria in Community-Acquired Pneumonia. *Crit Care.* 2019; 23(1): 79. doi: 10.1186/s13054-019-2371-3.
72. Merino S, Camprubí S, Albertí S, Tomás J. Mechanisms of *Klebsiella pneumoniae* resistance to complement-mediated killing. *Infect Immun.* 1992; 60(6): 2529-2535. doi: 10.1128/iai.60.6.2529-2535.1992.
73. Llobet E, Martínez V, Moranta D, Dahlström K, Regueiro V, Tomás A, *et al.* Deciphering tissue-induced *Klebsiella pneumoniae* lipid A structure. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015; 112(46): 69-78. doi: 10.1073/pnas.1508820112.
74. Shankar S, Valencia G, Janes B, Rosenberg J, Whitfield C, Bender R, *et al.* The *Klebsiella pneumoniae* O antigen contributes to bacteremia and lethality during murine pneumonia. *Infect Immun.* 2004; 72(3): 23-30. doi: 10.1128/IAI.72.3.1423-1430.2004.
75. Khan A, Singh P, Srivastava A. Synthesis, nature and utility of universal iron chelator - Siderophore: A review. *Microbiol Res*; 212-213. Epub ahead of print 2018. DOI: 10.1016/j.micres.2017.10.012.
76. Russo T, *et al.* Aerobactin mediates virulence and accounts for increased siderophore production under iron-limiting conditions by hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Immun*; 82. Epub ahead of print June 2014. DOI: 10.1128/IAI.01667-13.
77. Palmer L, Skaar E. Transition Metals and Virulence in Bacteria. *Annu Rev Genet.* 2016; 50(1): 67-71. doi: 10.1146/annurev-genet-120215-035146.
78. Bachman M, Lenio S, Schmidt L, Oyler J, Weiser J. Interaction of lipocalin 2, transferrin, and siderophores determines the replicative niche of *Klebsiella pneumoniae* during pneumonia. *MBio.* 2012; 3(6): 224-211. doi: 10.1128/mBio.00224-11.

79. Paczosa M, Meccas J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2016; 80(3): 629-661. doi: 10.1128/MMBR.00078-15.
80. Ronan N, Jackson M, Juhasz V, Scarr D, *et al.* Relapsing *Klebsiella pneumoniae* meningitis in a patient with COVID-19. *Anaesthesia Rep.* 2021; 9(2): 121-136. doi: 10.1002/anr3.12136.
81. Moellering R. NDM-1--a cause for worldwide concern. *N Engl J Med.* 2010; 363(25): 2377-2379. doi: 10.1056/NEJMp1011715.
82. Flores W, Luque N, Albornoz R, Rojas N, Espinoza M, Pons M, *et al.* Evolution of Antimicrobial Resistance Levels of ESKAPE Microorganisms in a Peruvian IV-Level Hospital. *Infect Chemother.* 2021; 53(3): 449–462. doi: 10.3947/ic.2021.0015.
83. Sánchez J, Cantón R. Current status of ESKAPE microorganisms in Spain: Epidemiology and resistance phenotypes. *Rev Esp Quimioter.* 2019; 32(2): 27-31. doi: 10.3147/pm.2019.5806.
84. Coates A, Halls G, Hu Y. Novel classes of antibiotics or more of the same? *Br J Pharmacol.* 2011; 163(1): 184-194. doi: 10.111/j.176-5381.2011.01250.x.
85. Gilman A. *Las Bases Farmacológicas de La Terapéutica* [Internet]. 13 ed. USA: McGraw-Hill Inter; 2019. [Cited 26 may 2022]. Available from: [https://books.google.com.pe/books?id=MyCPwgEACAAJ&dq=Las+Bases+Farmacologicas+de+La+Terapeutica&hl=es&sa=X&redir\\_esc=y](https://books.google.com.pe/books?id=MyCPwgEACAAJ&dq=Las+Bases+Farmacologicas+de+La+Terapeutica&hl=es&sa=X&redir_esc=y)
86. Garcia A, Zamudio M. *Manual: microbiología médica.* 9 ed. México: McGraw-Hill Inter; 1998. [Cited 26 may 2022]. Available from: <https://books.google.com.pe/books?id=b3FKwKELz4YC&sitesec=buy&hl>
87. Velázquez P. *Farmacología Básica y Clínica.* 18ed: México. Med Panamericana; 2015. [Cited 27 may 2022]. Available from: <https://books.google.com.pe/books?id=BTPQC&printsec=onepage&q=Farmacolog%C3%ADa%20B%C3%A1sica%20y%20Cl%C3%ADnica&f=false>
88. Doi Y, Wachino J, Arakawa Y. Aminoglycoside Resistance: The Emergence of Acquired 16S Ribosomal RNA Methyltransferases. *Infect Dis Clin North Am.* 2016; 30(2): 523-537. doi: 10.1016/j.idc.2016.02.011.
89. Poulidakos P, Falagas M. Aminoglycoside therapy in infectious diseases. *Expert Opin Pharmacother.* 2013; 14(12): 1585-1597. doi: 10.1517/14656566.2013.806486.

90. Peirano G, Ahmed J, Fuller J, Rubin J, Pitout D. Travel-related carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Alberta, Canada: the first 3 years. *J Clin Microbiol.* 2014; 52(5): 1575-1581. doi: 10.1128/JCM.00162-14.
91. Srinivasan VB, Rajamohan G. KpnEF, a new member of the *Klebsiella pneumoniae* cell envelope stress response regulon, is an SMR-type efflux pump involved in broad-spectrum antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother*; 57. Epub ahead of print September 2013. DOI: 10.1128/AAC.02284-12.
92. Guven G, Nagiyev T, Meral M, Onlen C, Heydari F, Koksall F. NDM-1 and rmtC-Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Turkey. *Jundishapur journal of microbiology.* 2016; 9(10): 339-390. doi: 10.5812/jjm.33990.
93. Nam Y, Cho S, Yang H, Park K, Jang J, Kim Y, *et al.* Investigation of mutation distribution in DNA gyrase and topoisomerase IV genes in ciprofloxacin-non-susceptible *Enterobacteriaceae* isolated from blood cultures in a tertiary care university hospital in South Korea, 2005-2010. *Int J Antimicrob Agents.* 2013; 41(2):126-129. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.10.004.
94. Guillard T, Jong A, Limelette A, Lebreil A, Madoux J, Champs C, *et al.* Characterization of quinolone resistance mechanisms in Enterobacteriaceae recovered from diseased companion animals in Europe. *Vet Microbiol.* 2016; 194(1): 23-29. doi: 10.1016/j.vetmic.2015.11.033.
95. Martínez L, Hernández S, Albertí S, Tomás J, Benedi V, Jacoby G. In vivo selection of porin-deficient mutants of *Klebsiella pneumoniae* with increased resistance to cefoxitin and expanded-spectrum-cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996; 40(2): 342-348. doi: 10.1128/AAC.40.2.342.
96. Mazzariol A, Zuliani J, Cornaglia G, Rossolini G, Fontana R. AcrAB Efflux System: Expression and Contribution to Fluoroquinolone Resistance in *Klebsiella spp.* *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46(12): 3984-3986. doi: 10.1128/AAC.46.12.3984-3986.2002.
97. Mirzaii M, Jamshidi S, Zamanzadeh M, Marashifard M, Hosseini S, Haeili M, *et al.* Determination of gyrA and parC mutations and prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance genes in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from patients with urinary tract infection in Iran. *J Glob Antimicrob Resist.* 2018; 13(1): 197-200. doi: 10.1016/j.jgar.2018.04.017.

98. Surleac M, Barbu I, Paraschiv S, Loana P, Gheorghe I, Marutescu L, *et al.* Whole genome sequencing snapshot of multi-drug resistant *Klebsiella pneumoniae* strains from hospitals and receiving wastewater treatment plants in Southern Romania. PLoS One. 2020; 15(1): 228-231.
99. Sirot D, Sirot J, Labia R, Morand A, Courvalin P, Darfeuille A, *et al.* Transferable resistance to third-generation cephalosporins in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*: identification of CTX-1, a novel beta-lactamase. J Antimicrob Chemother. 1987; 20(3): 323-334. doi: 10.1093/jac/20.3.323.
100. Livermore D. Current epidemiology and growing resistance of gram-negative pathogens. J Intern Med. 2012; 27(2): 128-142. doi: 10.3904/kjim.2.27.2.128.
101. Evans B, Amyes S. OXA  $\beta$ -lactamases. Clin Microbiol Rev. 2014; 27(2): 241-263. doi: 10.1128/CMR.00117-13.
102. Bradford P. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev. 2001; 14(4): 933-951. doi: 10.1128.14.9-951.2001.
103. Philippon A, Slama P, Dény P, Labia R. A Structure-Based Classification of Class A  $\beta$ -Lactamases, a Broadly Diverse Family of Enzymes. Clin Microbiol Rev. 2016; 29(1): 29-57. doi: 10.1128/CMR.00019-15.
104. Jiménez J, Ismah W, Takebayashi Y, Findlay J, Schneiders T, Heesom K, *et al.* Envelope proteome changes driven by RamA overproduction in *Klebsiella pneumoniae* that enhance acquired  $\beta$ -lactam resistance. J Antimicrob Chemother. 2018; 73(1): 88-94. doi: 10.1093/jac/dkx345.
105. Klug T. Peritonsillar abscess: clinical aspects of microbiology, risk factors, and the association with parapharyngeal abscess. Dan Med J. 2017; 64(3): 333. doi: 10.2826059/.2017.b5333.
106. Peloux Y. Opportunistic bacteria. Ann Biol Clin (Paris). 1985; 43(2): 153-155. disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4073607/>
107. Soto S. Role of efflux pumps in the antibiotic resistance of bacteria embedded in a biofilm. Virulence. 2013; 4(3): 223–229. doi: 10.4161/viru.23724.
108. Rosales C, Uribe E. Phagocytosis: A Fundamental Process in Immunity. Biomed Res Int. 2017; 20(17): 51. doi: 10.1155/2017/9042851.
109. Diaz E, Martín I, Vallés J. Neumonía nosocomial. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013; 31(10): 692–698. doi: 10.1016/j.eimc.2013.04.014.

110. Sarwal P, Lapumnuaypol K. Pyogenic Granuloma [Internet]. National Center for Biotechnology Information (US); 2022. [cited 2022 may 29]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32310537/>.
111. PubMed [Internet]. Plasmids-MeSh: National Center for Biotechnology Information (US); 2022. [cited 2022 aug 31]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh?Db=mesh&Cmd=DetailsSearch&Term=%22Plasmids%22%5Aachromosomal%2C%20usually%20CIRCULAR%20DNA%20molecules.from%20one%20organism%20to%20another.>
112. PubMed [Internet]. Septicemia: National Center for Biotechnology Information (US); 2008. [cited 2022 sep 2]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19157211/>
113. Khasheii B, Mahmoodi P, Mohammadzadeh A. Siderophores: Importance in bacterial pathogenesis and applications in medicine and industry. *Microbiol Res.* 2021; 25(1): 126-129. doi: 10.1016/j.micres.2021.126790.
114. Szabo O, Kocsis B, Szabo N, Kristof K, Szabo D. Contribution of OqxAB Efflux Pump in Selection of Fluoroquinolone-Resistant. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2018; 20(18): 138. doi: 10.1155/2018/4271638.
115. Lange R. Erythrocytosis associated with normal blood-gas values. *Adv Intern Med [Internet].* 1976 [cited 01 set 2022]; 21(1): 309–333. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3103/>
116. Li X, Elkins C, Zgurskaya H. Efflux-Mediated Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Regulation and Clinical Implications. Springer. 2016; 11: 83-85. DOI: 10.1007/978-3-319-39658-3
117. Zhong X, Xu H, Chen D, Zhou H, Hu X, Cheng G. First Emergence of acrAB and oqxAB Mediated Tigecycline Resistance in Clinical Isolates *Klebsiella pneumoniae* Pre-Dating the Use of Tigecycline in a Chinese Hospital. *PLoS One.* 2014; 9(12): 115-185. doi: 10.1371/journal.pone.01115185.
118. Wasfi R, Elkhatib W, Ashour H. Molecular typing and virulence analysis of multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates recovered from Egyptian hospitals. *Sci Rep.* 2016; 6: 29-31. doi: 10.1038/srep38929
119. Pakzad I, Zayyen M, Taherikalani M, Boustanshenas M, Rastegar A. Contribution of AcrAB efflux pump to ciprofloxacin resistance in *Klebsiella pneumoniae* isolated from burn patients. *GMS Hyg Infect Control.* 2013; 8(2):15-17. doi: 10.3205/dgkh00021.

120. Sedighi M, Halajzadeh M, Ramazanzadeh R, Amirmozafaru N, Heidary M, Pirouzi S. Molecular detection of  $\beta$ -lactamase and integron genes in clinical strains of *Klebsiella pneumoniae* by multiplex polymerase chain reaction. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2017; 50(3): 321–328. doi: 10.1590/0037-8682-0001-20
121. Basnayake O, Jayarajah U, Gunawardena K, Sivaganesh S. Multi-system : A tale of destruction from lung to eye. *SAGE Open Med Case Rep.* 2022; 10: 205-212. doi: 10.1177/2050313X221105157.
122. Westbrook G, O'Hara C, Roman S, Miller J. Incidence and identification *Klebsiella planticola* in clinical isolates with emphasis on newborns. *J Clin Microbiol.* 2000; 38(4): 1495–1497. doi: 10.1128/JCM.38.4.1495-1497.2000.
123. Rosenblueth M, Martínez L, Silva J, Martinez E. *Klebsiella variicola*, a novel species with clinical and plant-associated isolates. *Syst Appl Microbiol.* 2004; 27(1): 27-35. doi: 10.1078/0723-2020-00261.
124. Brisse S, Himbergen T, Kusters K, Verhoef J. Development of a rapid identification method for *Klebsiella pneumoniae* phylogenetic groups and analysis of 420 clinical isolates. *Clin Microbiol Infect.* 2004; 10(10): 942–945. doi: 10.1111/j.1469-0691.2004.00973.x.
125. Farmer J, Davis B, Hichman F, McWhorter A, Huntley G, Asbury M, *et al.* Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 1985; 21(1): 46-76. doi: 10.1128/jcm.21.1.46-76.1985.
126. Alves M, Da Silva C, Castro A, Riley L, Moreira B. Identification of Clinical Isolates of Indole-Positive and Indole-Negative *Klebsiella spp.* *J Clin Microbiol.* 2006; 44(10): 3640. doi: 10.1128/JCM.00940-06.
127. Garza U, Silva J, Martínez E, Tinoco P, Pina M, Barrios H, *et al.* Development of a multiplex-PCR probe system for the proper identification of *Klebsiella variicola*. *BMC Microbiol.* 2015; 15: 64. doi: 10.1186/s12866-015-0396-6.
128. Díaz P, Bello H, Dominguez M, Trabal N, Mella S, Zemelman R, *et al.* Resistance to gentamicin, amikacin and ciprofloxacin among nosocomial isolates of *Klebsiella pneumoniae* subspecies pneumoniae producing extended spectrum beta-lactamases. *Rev Med Chil.* 2004; 132(10): 1173–1178. doi: 10.4067/s0034-98872004001000003.

129. Kareem S, Kadmy I, Kazaal S, Mohammed A, Naji S, Makharita R, *et al.* Detection of *gyrA* and *parC* Mutations and Prevalence of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes in *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Drug Resist.* 2021; 14: 555–563. doi: 10.2147/IDR.S275852.
130. Yousefi R, Alijani P, Saidijam M, Yusof M, Hashido H. Study of Antibiotic Resistance Pattern and Phenotypic Detection of ESBLs in *Klebsiella Pneumoniae* Strains Isolated from Clinical Samples and Determination of Minimum Inhibitory Concentrations of Imipenem and Ceftazidim Antibiotics. *Avicenna J Clin Med* 2014; 20(4): 295–302.
131. He R, Yang Y, Wu Y, Zhong L, Yang Y, Chen G, *et al.* Characterization of a Plasmid-Encoded Resistance-Nodulation-Division Efflux Pump in *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella quasipneumoniae* from Patients in China. *Antimicrob Agents Chemother.* 2021; 65(2): 20. doi: 10.1128/AAC.02075-20.
132. Hashemi A, *et al.* Evaluation of Genetic Pattern and Determination of *oqxA* Gene Expression Levels among Clinical Isolates of *K. Pneumoniae* Strains. *J Mazandaran Univ Medl Sci.* 2014; 24(119): 48-61.
133. Chávez V, Ramírez M, Silva J, Cervantes C. Resistencia Bacteriana a Quinolonas: Determinantes Codificados en Plásmidos. *Rev educ bioquím* 2015; 34(1): 4–9.
134. Robicsek A, Jacoby G, Hooper D. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect Dis.* 2006; 6(10): 629-640. doi: 10.1016/S1473-3099(06)70599-0.
135. Schneider E, Hunke S. ATP-binding-cassette (ABC) transport systems: functional and structural aspects of the ATP-hydrolyzing subunits/domains. *FEMS Microbiol Rev.* 1998; 22(1): 1–20. doi: 10.1111/j.1574-68.tb00358.x
136. Hassan K, Liu Q, Henderson P, Paulsen I. Homologs of the *Acinetobacter baumannii* Acel transporter represent a new family of bacterial multidrug efflux systems. *MBio.* 2015; 6(1): 82-84. doi: 10.1128/mBio.01982-14.
137. Hassan K, Jackson S, Penesyhan A, Patching S, Tetu S, Eijkelkamp B, *et al.* Transcriptomic and biochemical analyses identify a family of chlorhexidine efflux proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013; 110(50): 20254–20259. doi: 10.1073/pnas.1317052110.
138. Nikaido H. RND transporters in the living world. *Res Microbiol.* 2018; 169(7): 363–371. doi: 10.1016/j.resmic.2018.03.001.

139. Nikaido H. Structure and mechanism of RND-type multidrug efflux pumps. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol.* 2011; 77: 1–60. doi: 10.1002/9780470920541.ch1.
140. Tam H, Foong W, Oswald C, Hermann A, Zeng H, Pos K. Allosteric drug transport mechanism of multidrug transporter AcrB. *Nat Commun.* 2021; 12(1): 1–10. doi: 10.1038/s41467-021-24151-3
141. Du D, Wang X, Neuberger A, Van H, Pos K, Piddock L, *et al.* Multidrug efflux pumps: structure, function and regulation. *Nat Rev Microbiol.* 2018; 16(9): 523–539. doi: 10.1038/s41579-018-0048-6.
142. Hasdemir U, Chevalier J, Nordmann P, Pages J. Detection and Prevalence of Active Drug Efflux Mechanism in Various Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Strains from Turkey. *J Clin Microbiol.* 2004; 42(6): 2701-2706. doi: 10.1128/JCM.42.6.2701-2706.2004.
143. Pakzad I, Karin MZ, Taherikalani M, Boustanshenas M, Lari A. Contribution of AcrAB efflux pump to ciprofloxacin resistance in *Klebsiella pneumoniae* isolated from burn patients. *GMS Hygiene and Infection Control.* 2013; 8(2): 15. doi: 10.3205/dgkh000215.
144. Razavi S, Mirnejad R, Babapour E. Involvement of acrab and oqxab efflux pumps in antimicrobial resistance of clinical isolates of *klebsiella pneumoniae*. *J Appl Biotechnol Rep.* 2020; 7: 251–257. doi: 0.30491/JABR.2020.120179.
145. Morgan S, Becnel B, Steffen D, Zechiedrich L. Mechanisms accounting for fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53(3): 235-241. doi: 10.1128/AAC.00665-08.
146. Sáenz Y, Ruiz J, Zarazaga M, Teixidó M, Torres C, Vila J. Effect of the efflux pump inhibitor Phe-Arg-beta-naphthylamide on the MIC values of the quinolones, tetracycline and chloramphenicol, in *Escherichia coli* isolates of different origin. *J Antimicrob Chemother.* 2004; 53(3): 544-545. doi: 10.1093/jac/dkh117.
147. Kern W, Steinke P, Schumacher A, Schuster S, Von H, Bohner J. Effect of 1-(1-naphthylmethyl)-piperazine, a novel putative efflux pump inhibitor, on antimicrobial drug susceptibility in clinical isolates of *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother.* 2006; 57(2): 339-343. doi: 10.1093/jac/dki445.



148. Cunrath O, Meinel D, Maturana P, Fanous J, Buyck J, Saint P, *et al.* Quantitative contribution of efflux to multi-drug resistance of clinical *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* strains. *EBioMedicine*. 2019; 41: 479–487. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.02.061.
149. Edward E, Mohamed N, Zakaria A. Resensitization of Fluconazole-Resistant Urinary spp. Isolates by Amikacin through Downregulation of Efflux Pump Genes. *Pol J Microbiol*. 2020; 69(1): 73–84. doi: 10.33073/pjm-2020-010.
150. Gomis M, Pitart C, Barrio E, Zboromyrska Y, Cortes S, Mulet X, *et al.* Emergence of Resistance to Novel Cephalosporin- $\beta$ -Lactamase Inhibitor Combinations through the Modification of the *Pseudomonas aeruginosa* MexCD-OprJ Efflux Pump. *Antimicrob Agents Chemother*. 2021; 65(8): 21. doi: 10.1128/AAC.00089-21.
151. Reading E, Ahdash Z, Fais C, Ricci V, Wang X, Grimsey E, *et al.* Perturbed structural dynamics underlie inhibition and altered efflux of the multidrug resistance pump AcrB. *Nat Commun*. 2020; 11(1): 55-65. doi: 10.1038/s41467-020-19397-2.
152. Rafal M, Abdal J, Athraa H. The expression of efflux pump AcrAB in MDR *Klebsiella pneumoniae* isolated from Iraqi patients. *J Pharm Sci & Res*. 2019; 11(2): 423-428.
153. Dever L, Dermody T. Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics. *Arch Intern Med*. 1991; 151(5): 886-895.
154. Wright G. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Chem Commun* 2011; 47: 4055–4061. doi: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.
155. Schneiders T, Amyes S, Levy S. Role of AcrR and ramA in fluoroquinolone resistance in clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates from Singapore. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003; 47(9): 2831-3837. doi: 10.1128/AAC.47.9.2831-2837.2003.

## X. ANEXOS

### Anexo 01: Operacionalización de variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	MÉTODOS		INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA	OBSERVACIÓN
Cepas clínicas de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> es una bacteria encapsulada gramnegativa que pertenece a la familia Enterobacteriaceae.	Cepas clínicas de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aislados de pacientes hospitalizados con diagnóstico clínico de neumonía.	Genotípico	Técnica de PCR y electroforesis	Tamaño de amplicón	888 pb	-
Bomba de eflujo AcrAB	Es un sistema de eflujo perteneciente a la familia RDN, codificada por la proteína AcrA (proteína periplásmica de fusión de membrana) y AcrB (transportador transmembrana).	Bomba de eflujo AcrAB identificada mediante métodos microbiológicos y moleculares en cepas clínicas de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	Fenotípico	Inhibidores de la bomba de eflujo	Concentración mínima inhibitoria	ug/mL	-
			Genotípico	Técnica de PCR y electroforesis	Tamaño del amplicón	226 pb	-

## Anexo 02: Aprobación del comité de ética



"Año de la Universalización de la Salud"

### COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN PARA COVID-19

#### CERTIFICADO DE APROBACIÓN ÉTICA

El Comité de Ética en Investigación para COVID-19 del Seguro Social de Salud – Essalud hace constar que el protocolo de investigación señalado a continuación fue **APROBADO** bajo la categoría de **REVISIÓN EXPEDITA**.

**Título del estudio:** Determinación de coinfecciones virales y bacterianas en pacientes hospitalizados por COVID-19, y comparación de desenlaces clínicos hospitalarios

**Investigador principal:** Dr. Giancarlo Willmer Pérez Lazo

El protocolo aprobado corresponde a la versión 1.0 de fecha 04 de junio de 2020.

Para la aprobación se ha considerado el cumplimiento de pautas éticas en investigación, incluyendo el balance beneficio/riesgo, confidencialidad de los datos y otros.

Cualquier enmienda en los objetivos secundarios, metodología y aspectos éticos debe ser solicitada a este comité.

Cabe resaltar que, en concordancia con la resolución N° 42-IETSI-ESSALUD-2020 de fecha 27 de marzo de 2020, en el marco de la pandemia por COVID-19 y debido a la necesidad de generar información científica de forma rápida, con las limitaciones existentes, la ejecución del estudio puede iniciar con la presente aprobación, siendo este comité el responsable de comunicar a la Gerencia de la Red Prestacional Almenara sobre la aprobación del estudio.

El periodo de vigencia de la presente aprobación será de **12 meses**; desde el 26 de junio de 2020 hasta el 25 de junio de 2021, debiendo solicitar la renovación con 30 días de anticipación.

Sírvase hacernos llegar los **informes de avance del estudio en forma semestral** a partir la presente aprobación y el artículo científico una vez concluido el estudio

Lima, 26 de junio de 2020

**Dr. Jorge Alonso García Mostajo**  
**Presidente**  
**Comité de Ética en Investigación para COVID-19**  
**etica.ietsi@gmail.com**

### Anexo 03: Tablas con los resultados de las absorbancias

**Tabla 9: Lecturas de la CMI con amikacina**

Placa	Diluciones (µg/ml)	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	control
Muestra	Solo Amika	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
HA2 (KP-1)	1A	0.232	0.441	0.492	0.549	0.629	0.551	0.935	0.933	0.937	0.986	1.053	0.916
	1B	0.258	0.266	0.553	0.574	0.503	0.62	0.624	0.634	0.749	0.877	0.898	1.118
HA3 (KP-2)	2A	0.405	0.359	0.402	0.383	0.391	0.442	0.475	0.559	0.459	0.502	0.573	0.547
	2B	0.374	0.38	0.4	0.403	0.403	0.421	0.498	0.53	0.468	0.489	0.622	0.499
HA4 (KP-3)	3A	0.262	0.348	0.396	0.576	0.632	0.522	0.574	0.649	0.627	0.836	0.809	0.736
	3B	0.309	0.319	0.411	0.414	0.546	0.581	0.548	0.668	0.623	0.814	0.762	0.953
HA5 (KP-4)	4A	0.167	0.197	0.205	0.237	0.258	0.284	0.309	0.319	0.353	0.373	0.271	0.447
	4B	0.189	0.444	0.44	0.508	0.559	0.557	0.581	0.578	0.649	0.6	0.399	0.587
HA6 (KP-5)	5A	0.293	0.45	0.41	0.494	0.539	0.496	0.503	0.51	0.639	0.795	0.797	0.932
	5B	0.227	0.391	0.415	0.497	0.601	0.735	0.914	1.031	1.036	1.083	0.914	0.508
HA7 (KP-6)	6A	0.164	0.21	0.178	0.258	0.317	0.367	0.486	0.489	0.582	0.519	0.511	0.409
	6B	0.157	0.327	0.347	0.385	0.475	0.587	0.416	0.532	0.559	0.667	0.711	0.565
HA8 (KP-7)	7A	0.225	0.56	0.566	0.484	0.568	0.594	0.662	0.65	0.479	0.775	0.642	0.588
	7B	0.199	0.542	0.529	0.499	0.578	0.574	0.654	0.459	0.692	0.859	0.706	0.611
HA51 (KP-8)	8A	0.232	0.528	0.441	0.534	0.56	0.553	0.589	0.592	0.56	0.672	0.661	0.559
	8B	0.248	0.523	0.481	0.45	0.513	0.547	0.577	0.616	0.634	0.763	0.642	0.569
HA58 (KP-10)	9A	0.372	0.544	0.529	0.577	0.509	0.584	0.592	0.624	0.623	0.625	0.622	0.599
	9B	0.249	0.463	0.693	0.358	0.442	0.46	0.479	0.522	0.543	0.599	0.541	0.522
HA60 (KP-11)	10A	0.485	0.523	0.608	0.702	0.666	0.677	0.684	0.709	0.735	0.773	0.719	0.7
	10B	0.518	0.499	0.568	0.631	0.659	0.668	0.664	0.701	0.692	0.721	0.762	0.71
HA69 (KP-14)	11A	0.623	0.579	0.707	0.747	0.757	0.721	0.756	0.745	0.734	0.677	0.653	0.648
	11B	0.469	0.632	0.737	0.72	0.74	0.723	0.759	0.76	0.69	0.73	0.671	0.594
HA81 (KP-15)	12A	0.089	0.151	0.354	0.491	0.493	0.507	0.541	0.54	0.561	0.65	0.414	0.401
	12B	0.131	0.201	0.284	0.213	0.244	0.318	0.334	0.4	0.409	0.452	0.384	0.383
HA88 (KP-16)	13A	0.384	0.597	0.622	0.659	0.643	0.649	0.644	0.669	0.648	0.649	0.628	0.417
	13B	0.544	0.703	0.721	0.728	0.714	0.74	0.701	0.68	0.71	0.666	0.664	0.621
HA103 (KP-24)	14A	0.372	0.559	0.629	0.642	0.655	0.644	0.476	0.53	0.469	0.519	0.578	0.506
	14B	0.25	0.565	0.617	0.6	0.696	0.743	0.635	0.604	0.544	0.584	0.595	0.639
HA127 (KP-27)	15A	0.212	0.316	0.53	0.628	0.62	0.681	0.607	0.594	0.707	0.726	0.657	0.571
	15B	0.185	0.369	0.353	0.488	0.547	0.533	0.472	0.64	0.696	0.73	0.686	0.512
HA139 (KP-30)	16A	0.348	0.414	0.619	0.623	0.86	0.829	0.691	0.834	0.624	0.661	0.695	0.544
	16B	0.167	0.28	0.451	0.586	0.618	0.58	0.497	0.576	0.636	0.622	0.565	0.424

**Tabla 10: Lecturas de la CMI de ciprofloxacino**

Placa 1	Diluciones (µg/ml)	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	control
Muestra	Solo Cipro	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>HA2 (KP-1)</b>	<b>1A</b>	0.093	0.145	0.185	0.175	0.228	0.333	0.361	0.452	0.678	0.738	0.573	0.366
	<b>1B</b>	0.096	0.242	0.467	0.494	0.571	0.489	0.47	0.518	0.651	0.639	0.759	0.58
<b>HA3 (KP-2)</b>	<b>2A</b>	0.13	0.401	0.381	0.376	0.367	0.361	0.347	0.384	0.354	0.347	0.346	0.739
	<b>2B</b>	0.119	0.388	0.328	0.341	0.371	0.345	0.349	0.359	0.353	0.436	0.362	0.347
<b>HA4 (KP-3)</b>	<b>3A</b>	0.163	0.474	0.465	0.477	0.502	0.502	0.572	0.523	0.688	0.699	0.872	0.59
	<b>3B</b>	0.173	0.408	0.406	0.537	0.62	0.495	0.584	0.581	0.971	0.838	0.699	0.892
<b>HA5 (KP-4)</b>	<b>4A</b>	0.176	0.384	0.497	0.551	0.418	0.452	0.418	0.458	0.487	0.571	0.617	0.615
	<b>4B</b>	0.088	0.211	0.235	0.243	0.295	0.276	0.277	0.215	0.292	0.26	0.346	0.492
<b>HA6 (KP-5)</b>	<b>5A</b>	0.162	0.261	0.317	0.319	0.324	0.408	0.529	0.688	0.873	0.934	0.952	0.594
	<b>5B</b>	0.209	0.334	0.433	0.409	0.43	0.412	0.436	0.585	0.758	0.815	0.995	1.004
<b>HA7 (KP-6)</b>	<b>6A</b>	0.27	0.401	0.527	0.546	0.527	0.621	0.659	0.702	0.739	0.876	0.771	0.728
	<b>6B</b>	0.214	0.451	0.552	0.612	0.606	0.633	0.787	0.698	0.698	0.858	0.87	0.772
<b>HA8 (KP-7)</b>	<b>7A</b>	0.264	0.423	0.557	0.517	0.53	0.572	0.521	0.541	0.692	0.963	0.801	1.078
	<b>7B</b>	0.198	0.46	0.53	0.564	0.542	0.558	0.614	0.608	0.776	1.082	0.997	0.901
<b>HA51 (KP-8)</b>	<b>8A</b>	0.207	0.397	0.583	0.671	0.886	0.908	0.794	0.671	0.615	0.642	0.821	0.701
	<b>8B</b>	0.174	0.261	0.515	0.493	0.629	0.781	0.885	0.892	0.644	0.678	0.731	0.871
<b>HA58 (KP-10)</b>	<b>9A</b>	0.135	0.332	0.463	0.566	0.708	0.694	0.744	0.794	0.693	0.89	0.46	0.372
	<b>9B</b>	0.16	0.39	0.53	0.64	0.799	0.806	0.714	0.552	0.632	0.643	0.746	0.524
<b>HA60 (KP-11)</b>	<b>10A</b>	0.221	0.42	0.541	0.488	0.535	0.515	0.394	0.361	0.512	0.996	0.821	0.993
	<b>10B</b>	0.151	0.563	0.541	0.564	0.569	0.551	0.389	0.435	0.599	0.529	0.839	1
<b>HA69 (KP-14)</b>	<b>11A</b>	0.254	0.78	0.853	0.927	0.95	0.94	0.914	0.673	0.607	0.452	0.644	0.841
	<b>11B</b>	0.155	0.804	0.86	0.848	0.998	0.855	0.789	0.685	0.554	0.606	0.736	0.852
<b>HA81 (KP-15)</b>	<b>12A</b>	0.145	0.289	0.488	0.492	0.627	0.432	0.695	0.413	0.587	0.482	0.591	0.502
	<b>12B</b>	0.135	0.174	0.268	0.279	0.455	0.64	0.75	0.526	0.305	0.584	0.592	0.463
<b>HA88 (KP-16)</b>	<b>13A</b>	0.227	0.318	0.449	0.426	0.516	0.58	0.489	0.557	0.57	0.545	0.383	0.284
	<b>13B</b>	0.088	0.729	0.762	0.887	0.815	0.859	0.765	0.668	0.732	0.759	0.846	0.386
<b>HA103 (KP-24)</b>	<b>14A</b>	0.107	0.466	0.5	0.59	0.46	0.518	0.454	0.46	0.434	0.509	0.532	0.375
	<b>14B</b>	0.097	0.394	0.389	0.559	0.546	0.55	0.483	0.455	0.469	0.454	0.567	0.362
<b>HA127 (KP-27)</b>	<b>15A</b>	0.095	0.4	0.524	0.52	0.514	0.583	0.471	0.654	0.666	0.932	1.096	0.517
	<b>15B</b>	0.088	0.4	0.467	0.483	0.59	0.348	0.503	0.552	0.577	0.719	0.943	0.396
<b>HA139 (KP-30)</b>	<b>16A</b>	0.164	0.315	0.453	0.649	0.597	0.954	0.722	0.792	0.837	0.723	0.736	0.602
	<b>16B</b>	0.094	0.199	0.195	0.607	0.329	0.71	0.601	0.561	0.482	0.43	0.449	0.302

**Tabla 11: Lecturas de la CMI amikacina más el inhibidor de la bomba de eflujo (PABN)**

Placa 1	Diluciones (µg/ml)	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	control
Muestra	Amikacina + PaβN	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>HA2 (KP-1)</b>	<b>1A</b>	0.202	0.311	0.339	0.353	0.352	0.401	0.446	0.474	0.486	0.499	0.512	0.406
	<b>1B</b>	0.189	0.383	0.419	0.427	0.491	0.605	0.622	0.544	0.548	0.631	0.714	0.502
<b>HA3 (KP-2)</b>	<b>2A</b>	0.169	0.304	0.454	0.431	0.444	0.455	0.47	0.502	0.404	0.453	0.336	0.263
	<b>2B</b>	0.174	0.279	0.428	0.434	0.47	0.459	0.453	0.476	0.428	0.444	0.346	0.266
<b>HA4 (KP-3)</b>	<b>3A</b>	0.223	0.295	0.424	0.429	0.447	0.397	0.578	0.631	0.589	0.663	0.557	0.488
	<b>3B</b>	0.227	0.296	0.431	0.413	0.461	0.552	0.584	0.608	0.609	0.642	0.567	0.458
<b>HA5 (KP-4)</b>	<b>4A</b>	0.171	0.265	0.29	0.282	0.297	0.329	0.338	0.359	0.382	0.415	0.318	0.29
	<b>4B</b>	0.254	0.387	0.393	0.429	0.439	0.484	0.487	0.501	0.505	0.53	0.445	0.567
<b>HA6 (KP-5)</b>	<b>5A</b>	0.264	0.312	0.346	0.346	0.388	0.421	0.488	0.534	0.503	0.579	0.585	0.436
	<b>5B</b>	0.176	0.267	0.26	0.253	0.302	0.345	0.394	0.468	0.463	0.452	0.452	0.344
<b>HA7 (KP-6)</b>	<b>6A</b>	0.112	0.147	0.151	0.149	0.152	0.213	0.252	0.42	0.311	0.357	0.363	0.223
	<b>6B</b>	0.097	0.339	0.438	0.464	0.424	0.462	0.558	0.626	0.544	0.631	0.387	0.38
<b>HA8 (KP-7)</b>	<b>7A</b>	0.333	0.414	0.508	0.473	0.527	0.531	0.527	0.6	0.684	0.778	0.6	0.617
	<b>7B</b>	0.332	0.483	0.48	0.51	0.57	0.571	0.607	0.599	0.713	0.734	0.779	0.627
<b>HA51 (KP-8)</b>	<b>8A</b>	0.369	0.512	0.555	0.491	0.379	0.551	0.518	0.562	0.619	0.687	0.707	0.598
	<b>8B</b>	0.363	0.468	0.524	0.494	0.502	0.317	0.563	0.581	0.606	0.708	0.703	0.584
<b>HA58 (KP-10)</b>	<b>9A</b>	0.367	0.447	0.423	0.49	0.519	0.512	0.524	0.505	0.57	0.547	0.539	0.584
	<b>9B</b>	0.237	0.352	0.381	0.384	0.402	0.419	0.429	0.46	0.505	0.557	0.518	0.52
<b>HA60 (KP-11)</b>	<b>10A</b>	0.401	0.488	0.506	0.551	0.456	0.533	0.579	0.62	0.614	0.7	0.663	0.678
	<b>10B</b>	0.387	0.452	0.502	0.541	0.569	0.584	0.609	0.636	0.619	0.696	0.697	0.694
<b>HA69 (KP-14)</b>	<b>11A</b>	0.595	0.628	0.631	0.517	0.656	0.558	0.573	0.524	0.565	0.621	0.574	0.625
	<b>11B</b>	0.621	0.671	0.659	0.622	0.673	0.554	0.599	0.617	0.594	0.633	0.575	0.614
<b>HA81 (KP-15)</b>	<b>12A</b>	0.233	0.354	0.392	0.408	0.424	0.433	0.452	0.48	0.499	0.494	0.493	0.394
	<b>12B</b>	0.16	0.227	0.248	0.237	0.272	0.295	0.352	0.418	0.452	0.442	0.4	0.329
<b>HA88 (KP-16)</b>	<b>13A</b>	0.372	0.541	0.572	0.624	0.625	0.608	0.612	0.621	0.615	0.6	0.583	0.449
	<b>13B</b>	0.541	0.644	0.643	0.619	0.693	0.692	0.608	0.668	0.705	0.661	0.664	0.614
<b>HA103 (KP-24)</b>	<b>14A</b>	0.168	0.514	0.489	0.506	0.504	0.546	0.554	0.484	0.413	0.438	0.514	0.214
	<b>14B</b>	0.172	0.466	0.416	0.458	0.523	0.455	0.6	0.462	0.457	0.434	0.536	0.213
<b>HA127 (KP-27)</b>	<b>15A</b>	0.108	0.373	0.347	0.344	0.37	0.503	0.535	0.534	0.536	0.585	0.645	0.353
	<b>15B</b>	0.113	0.406	0.383	0.413	0.42	0.491	0.566	0.476	0.612	0.608	0.604	0.372
<b>HA139 (KP-30)</b>	<b>16A</b>	0.213	0.475	0.521	0.552	0.566	0.67	0.704	0.565	0.676	0.677	0.695	0.478
	<b>16B</b>	0.195	0.209	0.315	0.378	0.369	0.325	0.353	0.329	0.376	0.486	0.421	0.37

**Tabla 12: Lecturas de la CMI amikacina más el inhibidor de la bomba de eflujo (CCCP)**

Placa 1	Diluciones (µg/ml)	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	control
Muestra	Amikacina + CCCP	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
HA2 (KP-1)	1A	0.325	0.345	0.381	0.4	0.496	0.493	0.453	0.499	0.522	0.518	0.433	0.265
	1B	0.378	0.44	0.484	0.457	0.59	0.532	0.674	0.528	0.426	0.672	0.606	0.414
HA3 (KP-2)	2A	0.311	0.38	0.394	0.44	0.402	0.416	0.427	0.385	0.36	0.39	0.369	0.262
	2B	0.332	0.369	0.449	0.432	0.422	0.428	0.453	0.435	0.375	0.415	0.404	0.281
HA4 (KP-3)	3A	0.321	0.373	0.377	0.385	0.387	0.368	0.387	0.379	0.382	0.374	0.316	0.278
	3B	0.325	0.366	0.364	0.381	0.362	0.369	0.36	0.37	0.36	0.344	0.329	0.28
HA5 (KP-4)	4A	0.407	0.464	0.483	0.484	0.487	0.482	0.476	0.47	0.459	0.469	0.453	0.332
	4B	0.426	0.484	0.479	0.484	0.476	0.474	0.466	0.469	0.466	0.467	0.462	0.443
HA6 (KP-5)	5A	0.324	0.352	0.364	0.4	0.41	0.418	0.398	0.407	0.366	0.403	0.435	0.323
	5B	0.245	0.289	0.299	0.318	0.301	0.325	0.317	0.343	0.305	0.362	0.326	0.262
HA7 (KP-6)	6A	0.125	0.136	0.167	0.168	0.165	0.194	0.189	0.198	0.184	0.096	0.183	0.136
	6B	0.158	0.18	0.287	0.423	0.443	0.395	0.213	0.414	0.423	0.148	0.236	0.172
HA8 (KP-7)	7A	0.449	0.527	0.527	0.546	0.544	0.542	0.54	0.534	0.543	0.517	0.505	0.485
	7B	0.314	0.504	0.539	0.544	0.551	0.553	0.553	0.556	0.53	0.472	0.445	0.444
HA51 (KP-8)	8A	0.492	0.504	0.535	0.53	0.563	0.545	0.546	0.546	0.553	0.519	0.517	0.453
	8B	0.499	0.461	0.537	0.531	0.54	0.54	0.546	0.553	0.544	0.54	0.544	0.456
HA58 (KP-10)	9A	0.345	0.432	0.515	0.552	0.458	0.519	0.508	0.583	0.587	0.576	0.452	0.367
	9B	0.215	0.336	0.375	0.351	0.37	0.357	0.415	0.436	0.436	0.437	0.413	0.304
HA60 (KP-11)	10A	0.371	0.528	0.451	0.525	0.57	0.581	0.559	0.576	0.592	0.538	0.479	0.32
	10B	0.396	0.51	0.574	0.516	0.575	0.577	0.585	0.576	0.576	0.522	0.569	0.359
HA69 (KP-14)	11A	0.285	0.414	0.472	0.471	0.477	0.476	0.501	0.475	0.486	0.441	0.466	0.249
	11B	0.287	0.443	0.502	0.509	0.488	0.512	0.481	0.503	0.451	0.452	0.442	0.266
HA81 (KP-15)	12A	0.491	0.55	0.589	0.431	0.432	0.439	0.439	0.437	0.437	0.441	0.454	0.338
	12B	0.31	0.561	0.562	0.49	0.531	0.581	0.409	0.402	0.399	0.395	0.41	0.35
HA88 (KP-16)	13A	0.186	0.276	0.318	0.314	0.315	0.317	0.319	0.309	0.319	0.324	0.281	0.177
	13B	0.284	0.336	0.458	0.489	0.459	0.456	0.457	0.495	0.444	0.461	0.324	0.259
HA103 (KP-24)	14A	0.201	0.311	0.362	0.332	0.474	0.455	0.12	0.321	0.094	0.341	0.321	0.177
	14B	0.339	0.176	0.264	0.386	0.536	0.491	0.424	0.429	0.34	0.276	0.59	0.217
HA127 (KP-27)	15A	0.139	0.263	0.192	0.205	0.183	0.325	0.455	0.406	0.315	0.303	0.185	0.153
	15B	0.136	0.178	0.258	0.263	0.286	0.276	0.199	0.283	0.18	0.341	0.268	0.161
HA139 (KP-30)	16A	0.204	0.225	0.32	0.483	0.543	0.61	0.625	0.447	0.484	0.221	0.393	0.23
	16B	0.171	0.226	0.246	0.25	0.25	0.246	0.235	0.255	0.241	0.073	0.222	0.191

**Tabla 13: Lecturas de la CMI ciprofloxacino más el inhibidor de la bomba de eflujo (PABN)**

Placa 1	Diluciones (µg/ml)	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	control
Muestra	Cipro + PaβN	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
HA2 (KP-1)	1A	0.253	0.303	0.339	0.302	0.313	0.299	0.288	0.335	0.441	0.553	0.472	0.419
	1B	0.266	0.418	0.454	0.447	0.441	0.42	0.456	0.448	0.516	0.666	0.793	0.522
HA3 (KP-2)	2A	0.281	0.371	0.427	0.407	0.421	0.379	0.373	0.37	0.36	0.414	0.366	0.37
	2B	0.269	0.384	0.42	0.406	0.397	0.421	0.409	0.355	0.395	0.438	0.369	0.364
HA4 (KP-3)	3A	0.298	0.419	0.499	0.502	0.53	0.481	0.516	0.521	0.554	0.668	0.718	0.895
	3B	0.275	0.42	0.45	0.451	0.514	0.504	0.536	0.485	0.565	0.636	0.735	0.836
HA5 (KP-4)	4A	0.316	0.387	0.416	0.416	0.432	0.431	0.449	0.403	0.413	0.457	0.474	0.877
	4B	0.247	0.334	0.302	0.303	0.312	0.33	0.322	0.315	0.304	0.354	0.321	0.461
HA6 (KP-5)	5A	0.118	0.201	0.235	0.4	0.243	0.275	0.262	0.295	0.374	0.514	0.585	0.342
	5B	0.145	0.259	0.299	0.315	0.337	0.364	0.319	0.33	0.396	0.533	0.693	0.543
HA7 (KP-6)	6A	0.196	0.294	0.333	0.342	0.368	0.402	0.396	0.361	0.439	0.604	0.591	0.655
	6B	0.205	0.301	0.359	0.337	0.427	0.432	0.399	0.425	0.428	0.542	0.615	0.544
HA8 (KP-7)	7A	0.22	0.273	0.344	0.34	0.338	0.412	0.414	0.398	0.345	0.455	0.661	0.614
	7B	0.19	0.27	0.343	0.356	0.345	0.384	0.361	0.355	0.35	0.437	0.639	0.512
HA51 (KP-8)	8A	0.179	0.251	0.264	0.26	0.269	0.461	0.553	0.635	0.489	0.544	0.571	0.411
	8B	0.127	0.195	0.212	0.196	0.206	0.359	0.398	0.471	0.312	0.343	0.372	0.302
HA58 (KP-10)	9A	0.16	0.261	0.361	0.394	0.495	0.565	0.513	0.545	0.533	0.631	0.484	0.305
	9B	0.154	0.367	0.544	0.629	0.712	0.793	0.762	0.663	0.714	0.732	0.706	0.642
HA60 (KP-11)	10A	0.308	0.439	0.584	0.691	0.666	0.527	0.524	0.506	0.524	0.601	0.802	0.797
	10B	0.215	0.536	0.635	0.625	0.62	0.583	0.51	0.553	0.55	0.652	0.731	0.786
HA69 (KP-14)	11A	0.194	0.46	0.514	0.684	0.808	0.811	0.696	0.704	0.729	0.807	0.766	0.633
	11B	0.2	0.484	0.529	0.698	0.806	0.913	0.709	0.705	0.705	0.479	0.804	0.726
HA81 (KP-15)	12A	0.169	0.239	0.455	0.505	0.403	0.455	0.46	0.48	0.47	0.627	0.604	0.673
	12B	0.114	0.206	0.221	0.219	0.247	0.302	0.24	0.319	0.347	0.48	0.439	0.323
HA88 (KP-16)	13A	0.106	0.15	0.215	0.358	0.436	0.486	0.391	0.426	0.533	0.463	0.436	0.349
	13B	0.096	0.259	0.231	0.523	0.483	0.521	0.484	0.522	0.536	0.614	0.754	0.528
HA103 (KP-24)	14A	0.12	0.162	0.237	0.467	0.424	0.5	0.337	0.447	0.329	0.407	0.242	0.332
	14B	0.11	0.17	0.359	0.513	0.488	0.528	0.481	0.468	0.494	0.486	0.254	0.357
HA127 (KP-27)	15A	0.137	0.21	0.34	0.336	0.517	0.569	0.55	0.491	0.535	0.847	0.557	0.633
	15B	0.111	0.197	0.294	0.427	0.518	0.61	0.512	0.595	0.519	0.747	0.665	0.62
HA139 (KP-30)	16A	0.121	0.223	0.293	0.28	0.274	0.376	0.449	0.498	0.58	0.606	0.536	0.635
	16B	0.092	0.221	0.227	0.226	0.217	0.536	0.698	0.619	0.526	0.537	0.548	0.323

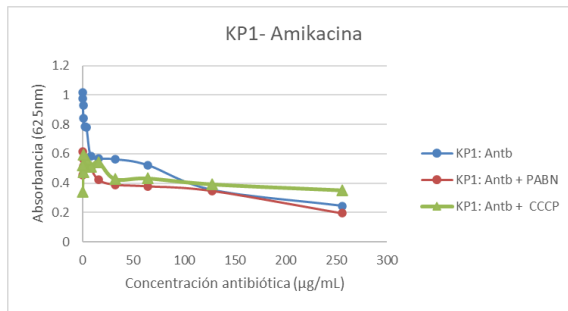


**Tabla 14: Lecturas de la CMI ciprofloxacino más el inhibidor de la bomba de eflujo (CCCP)**

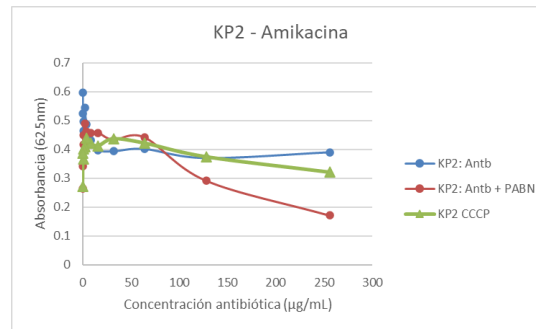
Placa 1	Diluciones (µg/ml)	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	control
Muestra	Cipro + CCCP	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
HA2 (KP-1)	1A	0.201	0.254	0.279	0.285	0.276	0.276	0.283	0.281	0.288	0.31	0.276	0.182
	1B	0.249	0.325	0.336	0.336	0.363	0.344	0.373	0.357	0.356	0.408	0.454	0.258
HA3 (KP-2)	2A	0.232	0.308	0.313	0.287	0.304	0.322	0.329	0.309	0.304	0.303	0.293	0.242
	2B	0.24	0.31	0.309	0.328	0.335	0.307	0.321	0.331	0.309	0.317	0.294	0.244
HA4 (KP-3)	3A	0.264	0.331	0.342	0.323	0.368	0.315	0.331	0.357	0.343	0.332	0.372	0.258
	3B	0.227	0.332	0.326	0.344	0.341	0.322	0.329	0.33	0.318	0.329	0.362	0.268
HA5 (KP-4)	4A	0.255	0.287	0.313	0.313	0.302	0.302	0.311	0.315	0.299	0.301	0.32	0.264
	4B	0.201	0.24	0.255	0.259	0.268	0.268	0.276	0.286	0.286	0.265	0.272	0.218
HA6 (KP-5)	5A	0.147	0.199	0.216	0.23	0.227	0.227	0.241	0.261	0.253	0.271	0.232	0.174
	5B	0.168	0.4	0.426	0.5	0.475	0.497	0.476	0.462	0.47	0.472	0.407	0.235
HA7 (KP-6)	6A	0.232	0.424	0.469	0.457	0.468	0.401	0.437	0.439	0.393	0.394	0.389	0.23
	6B	0.229	0.453	0.291	0.454	0.465	0.451	0.412	0.405	0.395	0.41	0.457	0.229
HA8 (KP-7)	7A	0.259	0.454	0.412	0.486	0.451	0.491	0.454	0.471	0.426	0.453	0.504	0.254
	7B	0.241	0.455	0.452	0.499	0.35	0.44	0.403	0.412	0.46	0.452	0.51	0.239
HA51 (KP-8)	8A	0.186	0.296	0.421	0.412	0.405	0.396	0.418	0.467	0.413	0.433	0.33	0.2
	8B	0.129	0.175	0.197	0.198	0.205	0.198	0.208	0.208	0.205	0.218	0.185	0.157
HA58 (KP-10)	9A	0.193	0.236	0.302	0.267	0.276	0.284	0.285	0.315	0.29	0.335	0.327	0.255
	9B	0.157	0.397	0.382	0.382	0.364	0.372	0.295	0.331	0.251	0.313	0.416	0.315
HA60 (KP-11)	10A	0.255	0.346	0.465	0.557	0.555	0.529	0.43	0.451	0.384	0.403	0.468	0.32
	10B	0.24	0.513	0.575	0.584	0.603	0.591	0.472	0.473	0.414	0.38	0.355	0.319
HA69 (KP-14)	11A	0.216	0.301	0.423	0.428	0.419	0.468	0.392	0.395	0.294	0.34	0.235	0.228
	11B	0.213	0.264	0.369	0.314	0.398	0.413	0.385	0.363	0.27	0.321	0.233	0.227
HA81 (KP-15)	12A	0.183	0.251	0.241	0.235	0.235	0.243	0.241	0.202	0.194	0.206	0.215	0.211
	12B	0.138	0.191	0.179	0.193	0.189	0.197	0.199	0.195	0.195	0.19	0.189	0.139
HA88 (KP-16)	13A	0.124	0.169	0.166	0.17	0.17	0.177	0.181	0.201	0.175	0.178	0.177	0.171
	13B	0.147	0.186	0.211	0.202	0.199	0.2	0.193	0.192	0.187	0.199	0.227	0.181
HA103 (KP-24)	14A	0.104	0.16	0.276	0.263	0.294	0.28	0.249	0.227	0.206	0.207	0.231	0.166
	14B	0.098	0.168	0.252	0.248	0.267	0.365	0.231	0.241	0.211	0.223	0.219	0.17
HA127 (KP-27)	15A	0.157	0.22	0.209	0.233	0.219	0.382	0.212	0.231	0.206	0.207	0.173	0.164
	15B	0.101	0.215	0.211	0.232	0.22	0.207	0.217	0.221	0.205	0.212	0.201	0.159
HA139 (KP-30)	16A	0.173	0.281	0.23	0.221	0.229	0.194	0.263	0.189	0.174	0.196	0.259	0.224
	16B	0.11	0.185	0.215	0.225	0.212	0.168	0.21	0.224	0.223	0.2	0.213	0.167

## Anexo 04: Gráficos con los resultados de las absorbancias vs Concentración

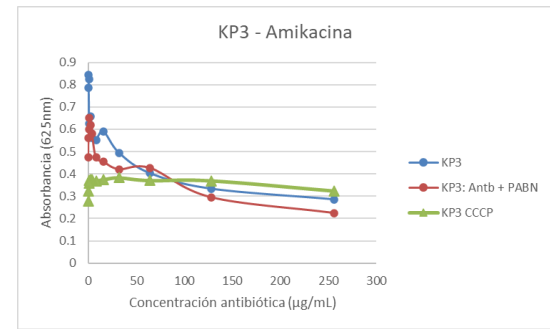
**Fig. 15 A**



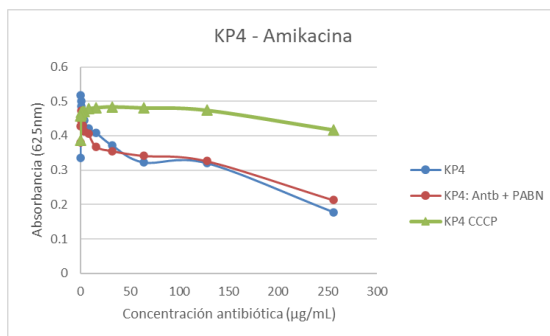
**Fig. 15 B**



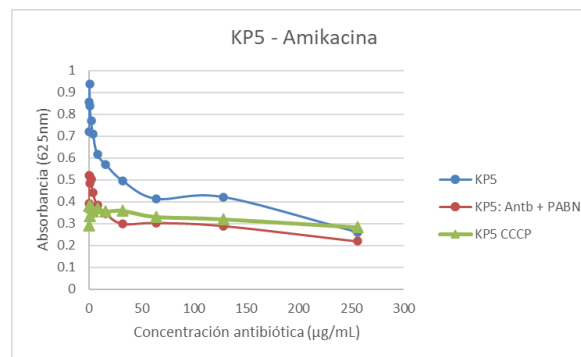
**Fig. 15 C**



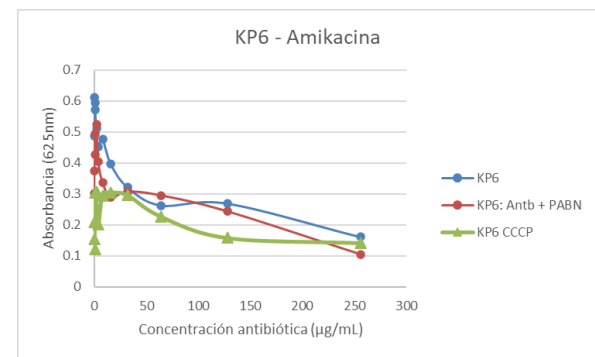
**Fig. 15 D**



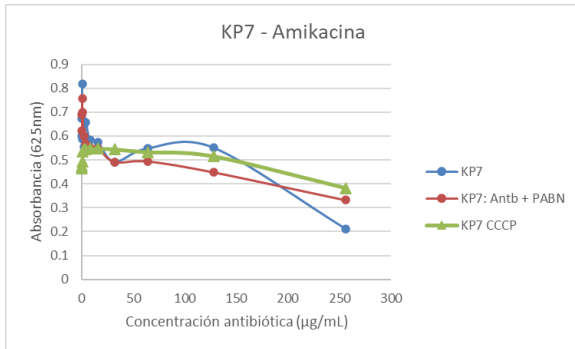
**Fig. 15 E**



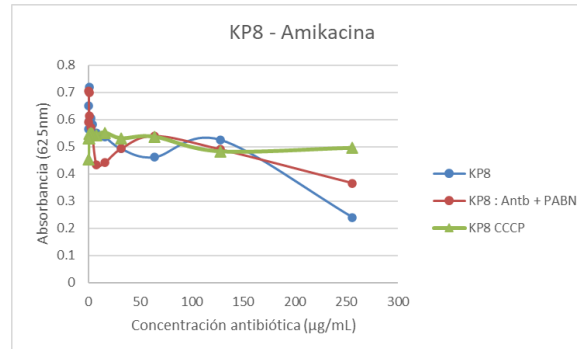
**Fig. 15 F**



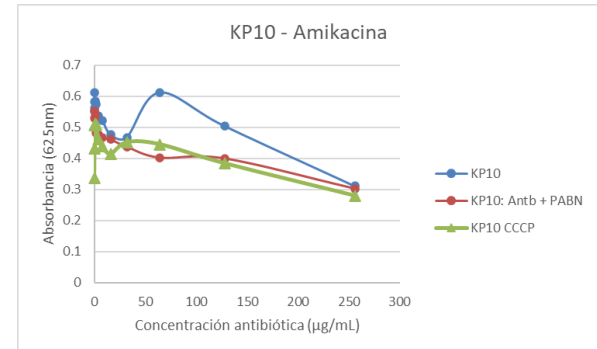
**Fig. 15 G**



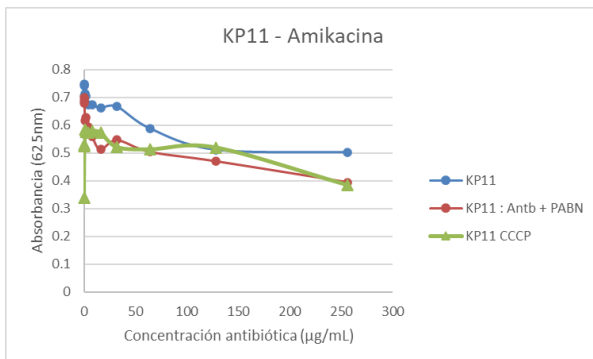
**Fig. 15 G**



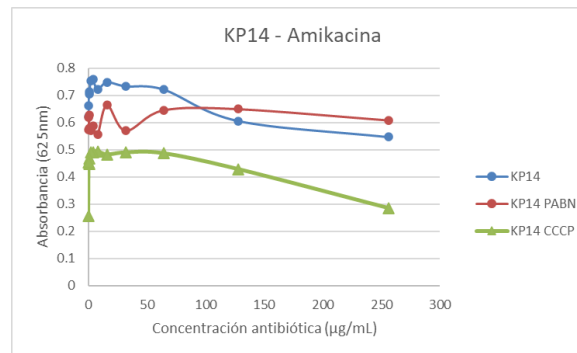
**Fig. 15 I**



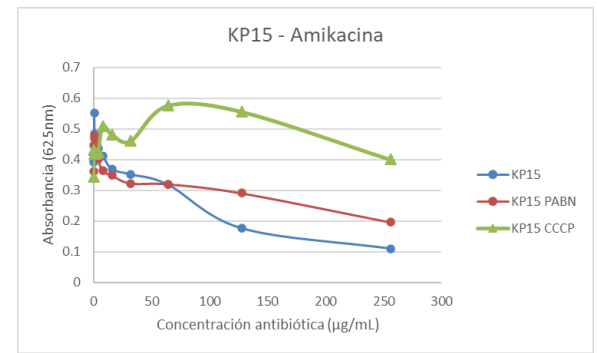
**Fig. 15 J**



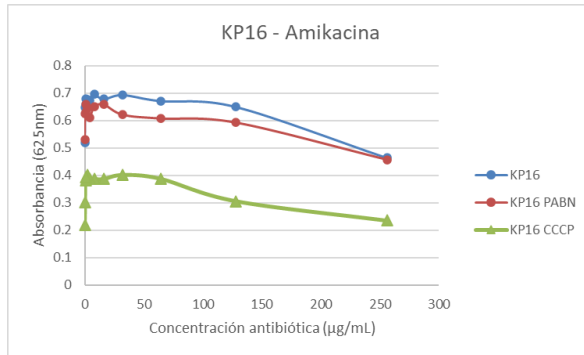
**Fig. 15 K**



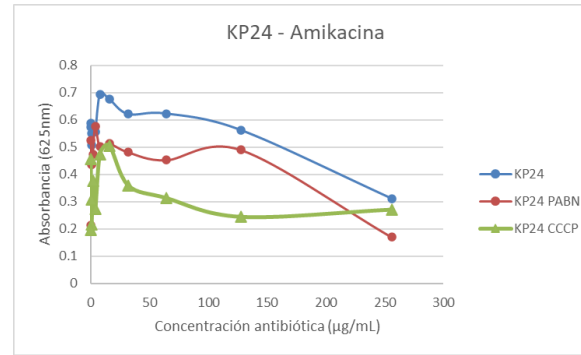
**Fig. 15 L**



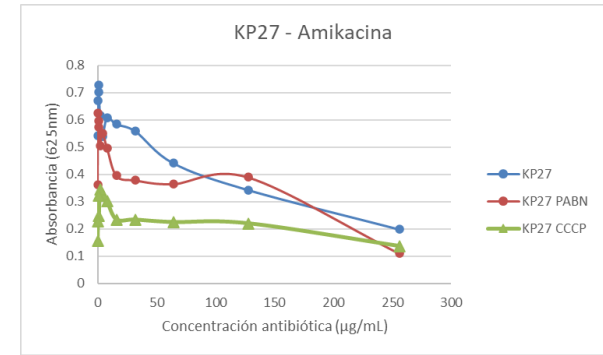
**Fig. 15 M**



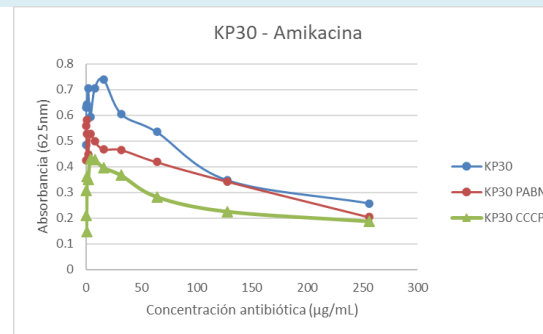
**Fig. 15 N**



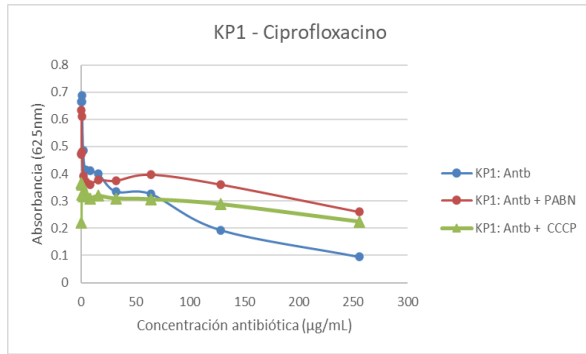
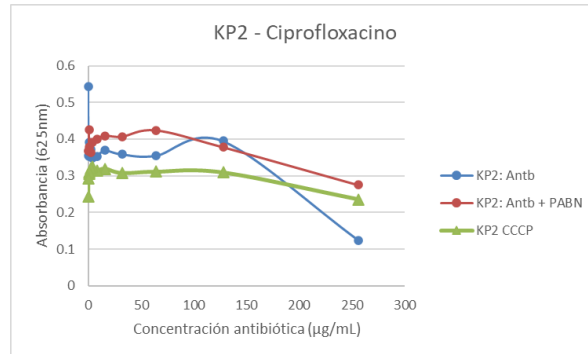
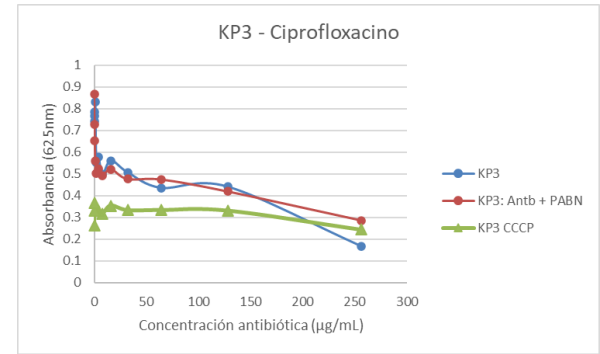
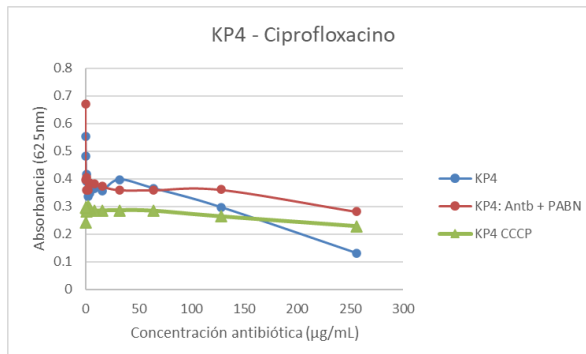
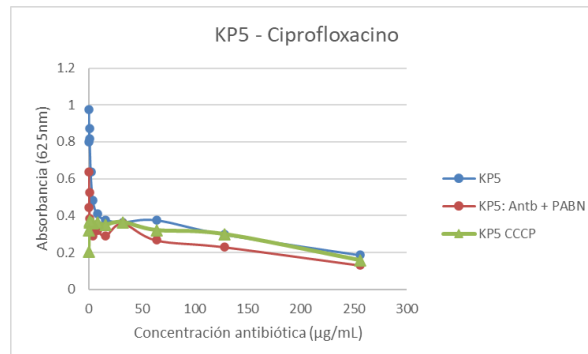
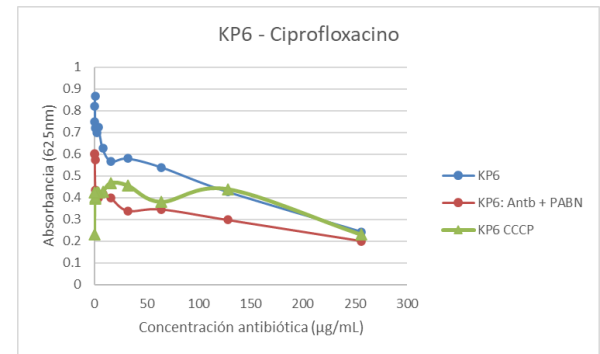
**Fig. 15 O**



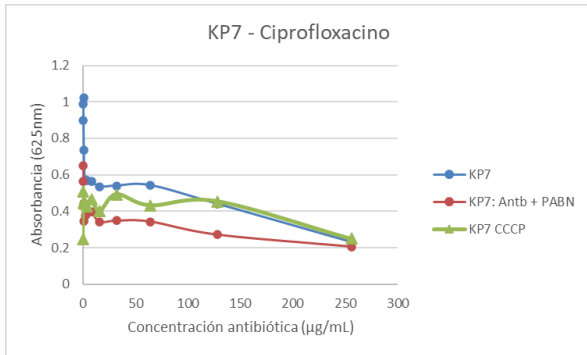
**Fig. 15 P**



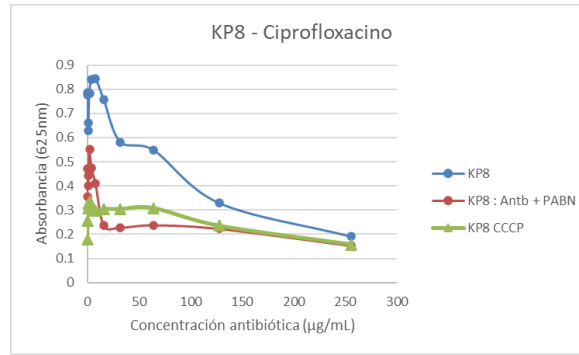
**Figura 15. Gráficos del promedio de lecturas de CMI (Abs 625 nm) versus la concentración antibiótica (ug/ml)**

**Fig. 16 A****Fig. 16 B****Fig. 16 C****Fig. 16 D****Fig. 16 E****Fig. 16 F**

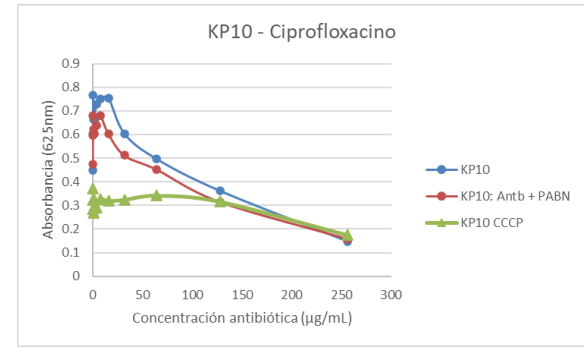
**Fig. 16 G**



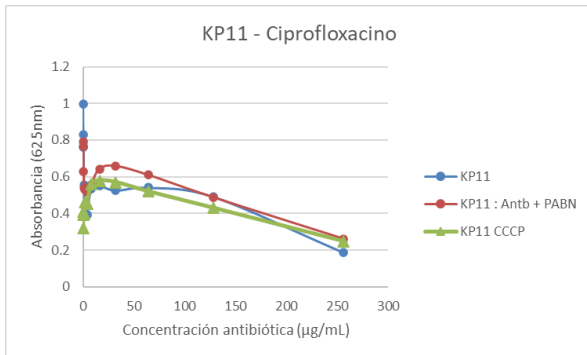
**Fig. 16 G**



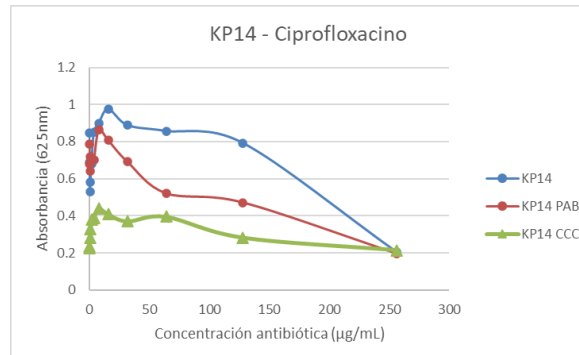
**Fig. 16 I**



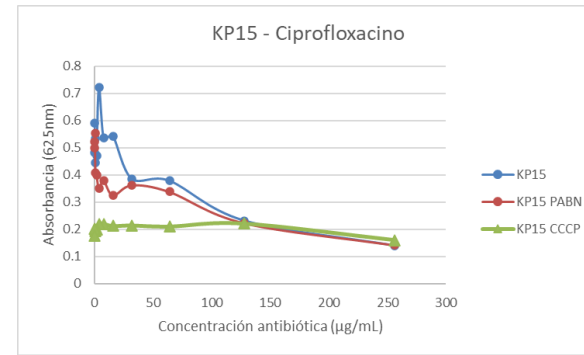
**Fig. 16 J**



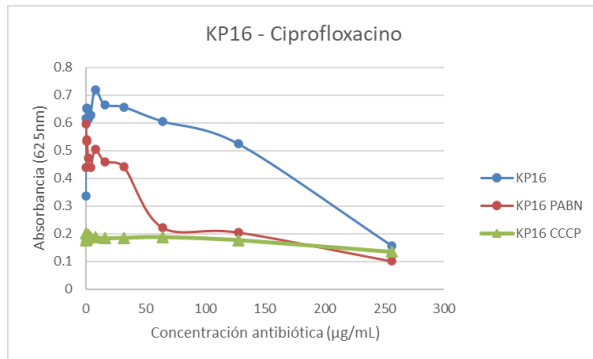
**Fig. 16 K**



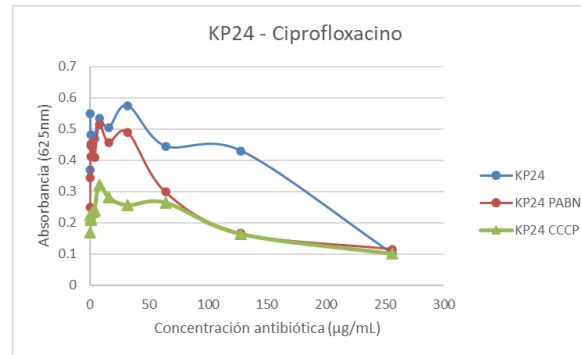
**Fig. 16 L**



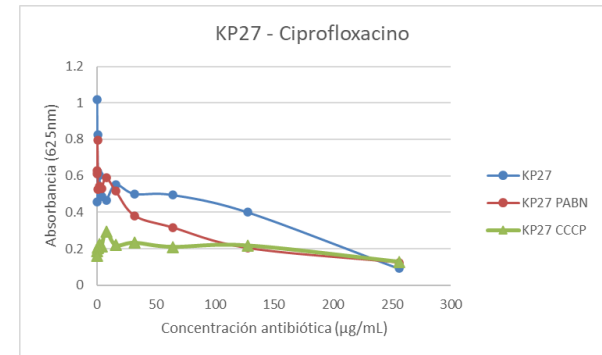
**Fig. 16 M**



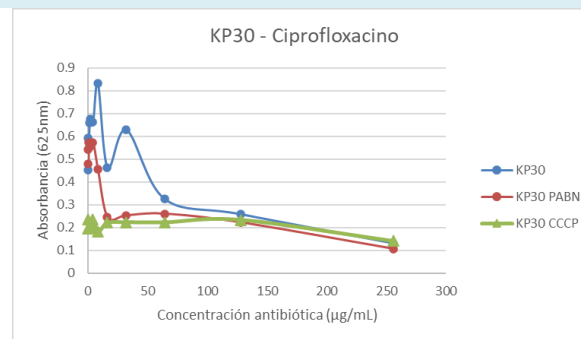
**Fig. 16 N**



**Fig. 16 O**



**Fig. 16 P**



**Figura 16. Gráficos del promedio de lecturas de CMI (Abs. 625 nm) versus la concentración antibiótica (ug/ml)**

**Anexo 05. Resultados del antibiograma del laboratorio de microbiología del Hospital Almenara**

CÓDIGO DE PROCEDENCIA	CÓDIGO ASIGANDO IIN	Fecha de toma de muestra	Patógeno identificado (Microbiología Hospital Almenara)	Amikacina	Amoxicilina/ ácido clavulánico	Ampicilina Sulbactam	Ampicilina	Aztreonam	Cefalotina	Cefepima	Cefotaxima
146	KP-1	12/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE
147	KP-2	15/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE
148	KP-3	15/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE
149	KP-4	15/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE
150	KP-5	15/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE
151	KP-6	15/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE
152	KP-7	20/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
5	KP-8	5/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
7	KP-9	5/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
12	KP-10	14/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
14	KP-11	14/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE
19	KP-12	19/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
21	KP-13	19/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
23	KP-14	19/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
35	KP-15	21/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
42	KP-16	27/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
202	KP-17	20/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
203	KP-18	20/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
206	KP-19	20/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
210	KP-20	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
211	KP-21	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
212	KP-22	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
213	KP-23	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
214	KP-24	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
215	KP-25	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
216	KP-26	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
51	KP-27	11/01/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
57	KP-28	12/01/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
62	KP-29	17/01/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	SENSIBLE	RESISTENTE	SENSIBLE	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
63	KP-30	19/01/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE



CÓDIGO DE PROCEDENCIA	CÓDIGO ASIGANDO IIN	Fecha de toma de muestra	Patógeno identificado (Microbiología Hospital Almenara)	Cefoxitina	Ceftazidima	Cefuroxima	Ciprofloxacina	Colistina	Ertapenem	Fosfomicina	Gentamicina
146	KP-1	12/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE
147	KP-2	15/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE
148	KP-3	15/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE
149	KP-4	15/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	INTERMEDIO	NO SE PROBO	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE
150	KP-5	15/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE
151	KP-6	15/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE
152	KP-7	20/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE
5	KP-8	5/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
7	KP-9	5/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
12	KP-10	14/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
14	KP-11	14/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
19	KP-12	19/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
21	KP-13	19/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
23	KP-14	19/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
35	KP-15	21/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
42	KP-16	27/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
202	KP-17	20/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
203	KP-18	20/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
206	KP-19	20/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
210	KP-20	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
211	KP-21	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
212	KP-22	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
213	KP-23	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
214	KP-24	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
215	KP-25	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	INTERMEDIO
216	KP-26	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
51	KP-27	11/01/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
57	KP-28	12/01/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
62	KP-29	17/01/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
63	KP-30	19/01/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE

CÓDIGO DE PROCEDENCIA	CÓDIGO ASIGANDO IIN	Fecha de toma de muestra	Patógeno identificado (Microbiología Hospital Almenara)	Imipenem	Levofloxacin	Meropenem	Nitrofurantoina	Norfloxacin	Piperacilina/tazobactam	Tigeciclina	Tobramicina	Trimetoprim-sulfametoxazol
146	KP-1	12/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
147	KP-2	15/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
148	KP-3	15/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	SENSIBLE
149	KP-4	15/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	INTERMEDIO	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
150	KP-5	15/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
151	KP-6	15/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
152	KP-7	20/06/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE
5	KP-8	5/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	INTERMEDIO	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE
7	KP-9	5/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	INTERMEDIO	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE
12	KP-10	14/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE
14	KP-11	14/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	INTERMEDIO	RESISTENTE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE
19	KP-12	19/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE
21	KP-13	19/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE
23	KP-14	19/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE
35	KP-15	21/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	INTERMEDIO	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE
42	KP-16	27/02/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE
202	KP-17	20/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE
203	KP-18	20/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE
206	KP-19	20/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE
210	KP-20	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE
211	KP-21	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE
212	KP-22	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE
213	KP-23	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE
214	KP-24	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE
215	KP-25	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	SENSIBLE	INTERMEDIO	SENSIBLE
216	KP-26	19/12/2018	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	INTERMEDIO	RESISTENTE	RESISTENTE
51	KP-27	11/01/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	RESISTENTE
57	KP-28	12/01/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	INTERMEDIO	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE	RESISTENTE
62	KP-29	17/01/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	SENSIBLE
63	KP-30	19/01/2019	KLEBSIELLA PNEUMONIAE	RESISTENTE	SENSIBLE	RESISTENTE	NO SE PROBO	NO SE PROBO	RESISTENTE	NO SE PROBO	RESISTENTE	SENSIBLE