



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Farmacia y Bioquímica**

**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

**Penetración de meropenem a través de biopelículas  
inducidas *in vitro* de *Pseudomonas aeruginosa*  
provenientes del Hospital Nacional Hipólito Unanue.**

**Lima-Perú**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

**AUTORES**

Víctor Arturo SALAZAR VALDEZ

Carlos Alberto SILVERA CARCASI

**ASESORES**

María Elena SALAZAR SALVATIERRA  
Roky Giovanni CHAMPI MERINO (Coasesor)

Lima, Perú

2024



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

---

Salazar V, Silvera C. Penetración de meropenem a través de biopelículas inducidas in vitro de *Pseudomonas aeruginosa* provenientes del Hospital Nacional Hipólito Unanue. Lima-Perú [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2024.

---

## Metadatos complementarios

<b>Datos de autor 1</b>	
Nombres y apellidos	Víctor Arturo Salazar Valdez
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	46911090
URL de ORCID	-
<b>Datos de autor 2</b>	
Nombres y apellidos	Carlos Alberto Silvera Carcasi
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	72715702
URL de ORCID	-
<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	Roky Giovanni Champi Merino
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	09913796
URL de ORCID	<a href="https://orcid.org/0000-0002-5275-4643">https://orcid.org/0000-0002-5275-4643</a>
<b>Datos del jurado</b>	
<b>Presidente del jurado</b>	
Nombres y apellidos	María Elena Montoya Alfaro
Tipo de documento	DNI

Número de documento de identidad	07300450
<b>Miembro del jurado 1</b>	
Nombres y apellidos	Gustavo Antonio Guerra Brizuela
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08462723
<b>Miembro del jurado 2</b>	
Nombres y apellidos	Jannelle Cyndi Mendoza León
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10613744
<b>Datos de investigación</b>	
Línea de investigación	B.2.8.3. Resistencia Bacteriana
Grupo de investigación	No aplica.
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Laboratorio de Microbiología del Instituto de Química Biológica, Microbiología y Biotecnología "Marco Antonio Garrido Malo" País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Lima Calle: Jr. Puno N°1002 Latitud: -12.05572 Longitud: -77.02324
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Febrero 2017 - octubre 2017
URL de disciplinas OCDE	Biología celular, Microbiología <a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.01">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.01</a>



## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

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

**PENETRACIÓN DE MEROPENEM A TRAVÉS DE BIOPELÍCULAS INDUCIDAS  
in vitro DE *Pseudomonas aeruginosa* PROVENIENTES DEL  
HOSPITAL NACIONAL HIPÓLITO UNANUE. Lima-Perú**

Que presentan los Bachilleres en Farmacia y Bioquímica:

**VÍCTOR ARTURO SALAZAR VALDEZ Y  
CARLOS ALBERTO SILVERA CARCASI**

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:

*Dieciocho (18) Aprobado con Mención Honorosa*

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.

Lima, 23 de abril de 2024.

Dra. María Elena Montoya Alfaro  
Presidente

Mg. Gustavo Antonio Guerra Brizuela  
Miembro

Mg. Jannelle Cyndi Mendoza León  
Miembro



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

Universidad del Perú. Decana de América



**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

### **CERTIFICADO DE SIMILITUD**

Yo María Elena Salazar Salvatierra identificada con DNI N° 08675623 en mi condición de asesora acreditada con la resolución Decanal N° 001078-2023-D-FFB/UNMSM, que la Tesis cuyo título es PENETRACIÓN DE MEROPENEM A TRAVÉS DE BIOPELÍCULAS INDUCIDAS *in vitro* DE *Pseudomonas aeruginosa* PROVENIENTES DEL HOSPITAL NACIONAL HIPÓLITO UNANUE. LIMA- PERÚ presentado por los Bachilleres en Farmacia y Bioquímica Carlos Alberto Silvera Carcasi y Víctor Arturo Salazar Valdez, para optar el Título Profesional de Química Farmacéutico.

**CERTIFICO:** que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de 8 % de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional**.

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado correspondiente.

Jardín Botánico 17 de abril 2023

.....  
Dra. María Elena Salazar Salvatierra  
DNI: 08675623  
Asesora



## **DEDICATORIA**

A mis progenitores, Rubén y Celia, cuyo afecto, perseverancia y dedicación han sido faros luminosos en mi travesía hacia la realización de un anhelo más en mi vida. Mi gratitud por ser pilares de inspiración, enseñándome la fortaleza y el valor ante las adversidades, con la certeza de la presencia divina en mi sendero.

Extiendo mi reconocimiento a cada uno de mis colegas, cuya solidaridad fue mi refugio en momentos de zozobra. Agradezco profundamente su amistad incondicional y el calor humano brindado día a día. En verdad, los llevo grabados en las profundidades de mi alma.

Carlos Silvera

La presente investigación está dedicada a Dios, ya que él es quien guía mi camino. A mis padres Socorro y Rigoberto por todo su amor y sabios consejos durante mi vida. Ellos son mi mayor inspiración. A mis queridos hermanos Miguel y Paola, por su compañía y gran afecto. A mi esposa Lisset, quien me ha amado y apoyado durante todo este proceso. A mis abuelitas en el cielo: Paciencia, Victoria y Elena, por el infinito amor que me brindaron, sus abrazos y sus besos siempre me harán falta. A mis familiares, por su apoyo incondicional y a mis amistades, quienes de alguna forma contribuyeron con mi carrera y mi formación personal. Los quiero mucho y siempre contarán conmigo.

Víctor Salazar



## **AGRADECIMIENTOS**

Manifestamos nuestra profunda gratitud hacia el Todopoderoso, cuya divina gracia perpetuamente enriquece nuestras vidas y la de nuestro núcleo familiar.

Extendemos nuestro reconocimiento a la UNMSM, abarcando la totalidad de la Facultad que nos instruyó, y de manera especial a nuestros docentes. Su transmisión de saberes invaluable ha sido esencial en nuestro crecimiento diario como profesionales. Valoramos inmensamente su paciencia, entrega, respaldo inquebrantable y amistad brindada.

En último término, deseamos proclamar nuestro agradecimiento más profundo y sincero a la Dra. María Elena Salazar Salvatierra y al Mg. Roky Champi Merino, piedras angulares en este proceso. Su liderazgo, erudición, instrucción y colaboración han sido fundamentales para la culminación de esta obra.

# ÍNDICE

I.INTRODUCCIÓN	1
1.1. Planteamiento del problema	1
1.2. Objetivos	2
1.2.1. Objetivo General:	2
1.2.2. Objetivos específicos:	2
1.3. Importancia y alcance de la investigación	3
1.4. Limitaciones de la investigación	3
II.REVISIÓN DE LA LITERATURA	4
2.1. Marco teórico	4
2.1.1 Bacterias gramnegativas	4
2.1.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : Caracterización morfológica y química	4
2.1.3. Antibióticos betalactámicos	5
2.1.4. <i>Carbapenems o carbapenémicos</i>	6
2.1.5. Meropenem	7
2.1.6. Mecanismos de resistencia bacteriana	9
2.1.7. Resistencia a antimicrobianos en <i>P. aeruginosa</i>	12
2.2. Antecedentes del estudio	13
2.2.1. Antecedentes internacionales	13
2.2.2. Antecedentes Nacionales	15
2.3. Bases teóricas	15
2.3.1. Bacterias gramnegativas	15
2.3.2. Categorización de las carbapenemasas	16
2.4. Glosario de términos	18
III.HIPÓTESIS Y VARIABLES	19
3.1. Hipótesis	19
3.2. Variables	19
3.3. Operacionalización de variables	19
IV.MATERIALES Y MÉTODOS	20
4.1. Área de estudio	20
4.2. Diseño de investigación	20
4.3. Población y muestra	20
4.4. Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de información	20
4.4.1. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS	20
4.4.2. IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA	21
4.4.3. EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD A MEROPENEM	21
4.4.4. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS	21
4.4.5. INDUCCIÓN A LA FORMACIÓN <i>IN VITRO</i> DE BIOPELÍCULAS DE <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22
4.4.6. ENSAYO DE PENETRACIÓN DEL ANTIBIÓTICO MEROPENEM	22
4.5. Análisis estadístico	23

V.RESULTADOS	24
5.1. IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA	24
5.2. SELECCIÓN DE CEPAS FORMADORAS DE BIOPELÍCULAS SENSIBLES A MEROPENEM	25
5.3. SELECCIÓN DE CEPAS FORMADORA DE BIOPELÍCULAS	26
5.4. INDUCCIÓN A LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS DE <i>Pseudomonas aeruginosa in vitro</i>	28
5.5. ENSAYO DE PENETRACIÓN DEL ANTIBIÓTICO MEROPENEM	28
5.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	32
VI. DISCUSIONES	33
VII.CONCLUSIONES	37
VIII.RECOMENDACIONES	37
IX.REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	38
X.ANEXOS	50

## **ABREVIATURAS**

**AMH:** Agar Mueller Hinton

**BLEE:**  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido

**DO:** Densidad óptica

**HNHU:** Hospital Nacional Hipólito Unanue

**IAAS:** Infecciones asociadas a atención de salud

**QS:** Quorum Sensing

**TSA:** Agar Tripticasa Soya

**TSB:** Caldo Tripticasa Soya

**UCI:** Unidad de Cuidados Intensivos

## RESUMEN

El *Pseudomonas aeruginosa* se destaca por su papel crítico en la epidemiología y la medicina clínica, vinculándose estrechamente a infecciones nosocomiales. Esto se debe a su arsenal de factores de virulencia y sus diversos tipos de resistencia contra tratamientos antimicrobianos. Se considera que la formación de biopelículas por parte de este microorganismo es un factor adicional que fortalece su resistencia. La presente investigación es de tipo observacional y longitudinal, tuvo como objetivo principal evaluar la penetración de meropenem a través de las biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* inducidas *in vitro*. Se recolectaron 45 muestras de esta bacteria del Hospital Nacional Hipólito Unanue, las cuales fueron identificadas mediante cultivo en agar selectivo ceftrimida, Prueba en agar de hierro de Kligler (KIA), y su capacidad de crecimiento en 42°C, además de someterlas a pruebas de sensibilidad a antibióticos. Posteriormente, se analizó la capacidad para formar biopelículas, enfocándose en aquellas cepas susceptibles al meropenem para inducir la formación de biopelículas *in vitro*. Los hallazgos revelaron que, del total de muestras de *Pseudomonas aeruginosa*, el 88,9% (40/45) son formadoras fuertes de biopelículas, mientras que el 11,1% (5/45) eran formadoras moderadas de biopelículas. Con un valor de  $p = 0,000$ , se confirmó que existe una diferencia significativa en los halos de inhibición formados por los sensidiscos de antibiótico tras exposiciones de 6 y 24 horas, lo que hace indicar que la formación biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* ejercen una barrera permeable que obstaculiza la efectividad de los antibióticos.

**Palabras clave:** *Pseudomonas aeruginosa*, resistencia a carbapenems, biopelícula.

## **ABSTRACT**

*Pseudomonas aeruginosa* stands out for its critical role in epidemiology and clinical medicine, being closely linked to nosocomial infections. This is due to its arsenal of virulence factors and its various types of resistance against antimicrobial treatments. The formation of biofilms by this microorganism is considered to be an additional factor that strengthens its resistance. The present investigation is observational and longitudinal, its main objective was to evaluate the penetration of meropenem through *Pseudomonas aeruginosa* biofilms induced *in vitro*. 45 samples of this bacteria were collected from the Hipólito Unanue National Hospital, which were identified by culture in selective ceftrimide agar, the Kia Agar test, and their growth capacity at 42°C, in addition to subjecting them to antibiotic sensitivity tests. Subsequently, the ability to form biofilms was analyzed, focusing on those strains susceptible to meropenem to induce biofilm formation *in vitro*. The findings revealed that, of the total *Pseudomonas aeruginosa* samples, 88.9% (40/45) are strong biofilm formers, while 11.1% (5/45) were moderate biofilm formers. With a value of  $p = 0.000$ , it was confirmed that there is a significant difference in the inhibition zones formed by the antibiotic sensidisks after exposures of 6 and 24 hours, which indicates that the formation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms exerts a permeable barrier that hinders the effectiveness of antibiotics.

## **KEY WORDS**

*Pseudomonas aeruginosa*, resistance to carbapenems, biofilm.

## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1.** Mecanismos de resistencia intrínseca

**Tabla 2.** Operacionalización de variables

**Tabla 3.** Pruebas de identificación para *Pseudomonas aeruginosa*

**Tabla 4.** Perfil de sensibilidad de *Pseudomonas aeruginosa* frente a meropenem

**Tabla 5.** Capacidad de formación de biopelículas por cepas de *Pseudomonas aeruginosa*

**Tabla 6.** Resultados de la prueba de penetración de meropenem a las biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*

**Tabla 7.** Prueba t de Student - Halos producidos por sensidisco de meropenem

## ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1.** Estructura general de carbapenémicos

**Figura 2.** Diagrama del ensayo de penetración del antibiótico meropenem

**Figura 3.** Distribución en el perfil de sensibilidad a Meropenem frente a *Pseudomonas aeruginosa*

**Figura 4.** Distribución de la capacidad de formación de biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*

**Figura 5.** Superposición de halos producidos por sensidiscos tras el ensayo de penetración frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



## I. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Planteamiento del problema

Las infecciones nosocomiales representan un desafío crítico en el marco del bienestar global, afectando especialmente a pacientes en situaciones de vulnerabilidad extrema, como los ingresados en las Unidad de Cuidados Intensivos (UCI). Estos individuos están frecuentemente expuestos a infecciones causadas por un conjunto de bacterias conocidas como ESKAPE. Este grupo, nombrado por las iniciales de sus integrantes, incluye seis bacterias notorias por su elevada resistencia a tratamientos y su notable patogenicidad. Las bacterias que conforman este conjunto son: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter spp.*<sup>1,2</sup>.

Según el mapa microbiológico 2018 del Hospital Nacional Hipólito Unanue (HNHU en adelante)<sup>3</sup>, se identificaron 2781 aislamientos bacterianos de los cuales 355 (12,7 %) correspondieron a *Pseudomonas aeruginosa*, ocupando el tercer lugar de las bacterias más aisladas ese año, después de *Staphylococcus coagulasa negativo* y *Escherichia coli*. Además, en comparación con el año 2020, en el análisis situacional de salud 2021 realizado en el mismo hospital, se halló que, de un total de 2161 aislamientos bacterianos, 248 (11,5%) fueron *Pseudomonas aeruginosa*<sup>4</sup> colocando a este gramnegativo nuevamente en el tercer puesto de los patógenos más aislados en ese año.

Por ello se puede mencionar que *Pseudomonas aeruginosa* es una de las bacterias oportunistas más frecuentes en los servicios de salud, considerándose una amenaza intrahospitalaria principalmente en pacientes inmunosuprimidos debido a su alta capacidad y versatilidad para adaptarse a diversas condiciones y ambientes gracias a sus diferentes mecanismos de patogenicidad<sup>5,6</sup>.

La COVID-19 generó el aumento del empleo de terapias con antibióticos de espectro amplio debido a las infecciones asociadas con los dispositivos médicos en pacientes de la UCI. Así, los carbapenémicos son considerados la primera línea de tratamiento frente a las bacterias más resistentes entre las que se encuentran,

*Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* <sup>7</sup>. Sin embargo, según el Boletín Epidemiológico del Perú 2021, *Pseudomonas aeruginosa* se encontró entre los 3 patógenos causantes del 69% de los brotes notificados, incrementando la mortalidad a nivel hospitalario debido a su resistencia a carbapenems (34,6%) entre el 2020 y 2021<sup>8</sup>. Adicionalmente, en los albores de 2022, el MINSA desde un ente especializado proclamó una señal de amenaza epidemiológica “Riesgo de infecciones asociadas a la atención de la salud (IAAS) causadas por *Enterobacterias, Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter spp. productoras de carbapenemasas* en el Perú”. Esta comunicación incluye a centros médicos, tanto estatales como privados, a ejecutar labores de vigilancia y análisis epidemiológico con el objetivo de identificar, reportar, validar, manejar y llevar a cabo estrategias para prevenir y manejar estas infecciones en instalaciones sanitarias<sup>6</sup>. Cabe mencionar que los mecanismos de resistencia contra antibióticos carbapenémicos más investigados incluyen la disminución de permeabilidad, la sobreexpresión de bombas de eflujo, alteraciones, enzimas, entre otros, no se hace mención a las biopelículas, a pesar de su rol prominente como un factor de virulencia en esta especie<sup>5</sup>. Por tanto, es esencial enriquecer el entendimiento sobre otros posibles mecanismos de resistencia, como la formación de biopelículas, que podrían influir adversamente en los protocolos de tratamiento primarios contra estas bacterias.

## **1.2. Objetivos**

### **1.2.1. Objetivo General:**

- Evaluar la penetración de meropenem a través de las biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* inducidas *in vitro*.

### **1.2.2. Objetivos específicos:**

- Evaluar la sensibilidad de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* frente al Meropenem
- Evaluar la capacidad que posee la *Pseudomonas aeruginosa* en la formación de biopelículas, recolectadas del Hospital en referencia de Lima.

### **1.3. Importancia y alcance de la investigación**

*Pseudomonas aeruginosa*, es intrínsecamente resistente a varios antimicrobianos, debido a la presencia de mecanismos enzimáticos intrínsecos y adquiridos, sin embargo, de demostrarse la disminución de penetración de meropenem, la formación de biopelículas podrían ser un mecanismo antimicrobiano de tipo mecánico, es decir ofreciendo un obstáculo para que el antimicrobiano alcance el receptor y ejerza acción, lo que complicaría el tratamiento.

En este estudio, se aplica un método que no requiere equipamiento especial y que podría implementarse y aplicarse en diferentes instituciones para evaluar no sólo la formación de biopelículas bacterianas sino además evaluar si ellas constituyen un obstáculo para la penetración de un determinado antibiótico. De ser así, ello motivaría a las diferentes instituciones de salud de nuestro país, a buscar nuevos mecanismos de control y prevención de infecciones por microorganismos con capacidad de formar biopelículas.

Las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* que forman biopelículas, pueden formarlas en cualquier superficie, eso significa que en el ámbito clínico, se podrían encontrar en las mesas de las salas quirúrgicas, en dispositivos médicos, etc. por lo que los ambientes, específicamente las superficies ameritan permanente control microbiológico.

### **1.4. Limitaciones de la investigación**

- Consideramos que la cantidad de muestra proporcionada de la muestra fue una limitante para el presente estudio, debido a que en otros estudios la muestra fue mayor. Por tener un tamaño de muestra mayor se obtendría información más representativa.
- La falta de un método directo para el cálculo de concentración de meropenem en la interacción entre el sensidisco y la biopelícula de *Pseudomonas aeruginosa* inducidas *in vitro*

## II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

### 2.1 Marco teórico

#### 2.1.1 Bacterias gramnegativas

Las bacterias poseen pared celular formada principalmente por peptidoglicano que, entre otras cosas, brinda equilibrio osmótico. Además, las gramnegativas están equipadas con una segunda capa lipídica, frecuentemente referida como membrana externa (OM). Esta capa incluye porinas, estructuras canaliformes que facilitan la entrada de principios activos y diversas sustancias.<sup>9,10</sup>

#### 2.1.2 *Pseudomonas aeruginosa*: Caracterización morfológica y química

*Pseudomonas aeruginosa* es un agente infeccioso oportunista, ubicuo, además muy persistente a nivel del entorno. Dicha bacteria, en forma de bastón, tiene como dimensiones alrededor de 1.5 a 5  $\mu\text{m}$  de longitud y 0.25 a 0.5  $\mu\text{m}$  de radio<sup>11</sup>. Asimismo, tienen un flagelo el cual le provee de la motricidad requerida; y conforme a lo que mencionan otros autores<sup>12,13</sup>, es considerada una bacteria aerobia facultativa, por la capacidad de desarrollarse dentro de ambientes anaerobios, captando la arginina o el nitrógeno en forma de estación para la recepción de protones. Es así que, es capaz de desarrollarse de modo eficiente, tanto dentro del agua como en el suelo, a través de una demanda alimentaria mínima y soportando múltiples condiciones físicas. Podrían desenvolverse entre 20 a 43°C y, al extenderse en valores elevados de temperatura, lo que la distinguen de otras especies, tipificándose por pertenecer a la agrupación de no fermentadores de azúcares, con la facultad de emplear suministros de nitrógeno, así como de carbono, tales como amoníaco y acetato, adquiriendo energía a partir de la oxidación de azúcares<sup>14</sup>.

Dicha bacteria asimismo posee la habilidad de generar una sucesión de proteasas (proteasa IV, proteasa alcalina,) así como elastasas, las cuales representan a enzimas con la facultad de producir la degradación de diversas proteínas de tipo inmunoreguladoras, comprendiendo a las proteínas tensoactivas A y D, péptidos antimicrobianos, anticuerpos y proteínas del complemento<sup>15</sup>.

Esta bacteria está asociada a infecciones de heridas y quemaduras; también existe el riesgo de que ingrese por punción lumbar causando meningitis, o infecciones urinarias al entrar por catéteres e instrumentos<sup>16</sup>. Además, provoca infecciones a nivel de la córnea, así como queratitis (concretamente a causa de la proteasa IV, así como de la proteasa alcalina). De este modo, las habilidades que posee *P. aeruginosa* para poder subsistir dentro de circunstancias desfavorables del entorno, además de aquellos sistemas de patogenicidad que tiene, la han transformado en un patógeno importante vinculado con infecciones hospitalarias, siendo el causante de entre 10 al 15% de las infecciones hospitalarias a nivel global<sup>15</sup>.

### **2.1.3 Antibióticos betalactámicos**

Estos fármacos son inhibidores de la construcción de la pared celular que envuelve a las células bacterianas. Dicha estructura está formada por peptidoglicano, el cual a su vez se compone de largas cadenas de polímeros azucarados. Gracias a la actividad de las transglicosilasas, las cadenas de péptidos que permiten intercalarse entre los azúcares de polímeros, formando enlaces cruzados entre los péptidos. Además, en presencia de las denominadas Proteínas Fijadoras de Penicilina (PBP), los residuos de la glicina enlazan la porción de D-alanil-D-alanina de la cadena peptídica<sup>9</sup>.

Con lo expuesto es este vínculo el que hace que la pared celular bacteriana sea más fuerte. El objetivo principal de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos es impedir la formación de PBP. Según algunas teorías, el anillo  $\beta$ -lactámico se une a la cadena peptídica en lugar de la porción de D-alanyl-D-alanina, que a menudo está unida por PBP, lo que hace inútil para la síntesis de nuevos peptidoglicanos. El rompimiento de la pared de peptidoglucano conduce finalmente, a la lisis bacteriana<sup>9</sup>.

#### 2.1.4 Carbapenems o carbapenémicos

Los carbapenémicos forman parte de la familia de antibacterianos  $\beta$ -lactámicos. Bajo ese contexto el mecanismo de acción de los carbapenémicos comienza al ingresar dentro de la pared bacteriana e inhibiendo a la familia de enzimas denominadas PBP mediante reacciones de acilación <sup>17</sup>.

Al igual que otros  $\beta$ -lactámicos, los carbapenems son reprimidores de la biosíntesis de pared celular bacteriana; específicamente, ellos previenen la transpeptidación, etapa importante porque brinda integridad estructural. La inhibición de los enlaces intercatenarios resulta, por lo tanto, en lisis y posterior muerte celular, por ello, los carbapenems se clasifican como bactericidas <sup>18</sup>.

Sin embargo, este grupo de antibióticos muestran limitada permeabilidad al envoltorio periférico de las gramnegativas, por lo cual dependen de las porinas externas (OMP) para que les facilite su ingreso, en *P. aeruginosa* es importante la porina OprD <sup>19</sup>.

Acorde a lo que describen Vaishya *et al.*<sup>20</sup>, debido al incremento de la cantidad de enfermedades debido a bacterias gramnegativas multirresistentes, tales como *P. aeruginosa* o *Enterobacteriaceae*, resulta indispensable el referirse a carbapenems para tratamiento antibacteriano tanto local como sistémico. Los carbapenems o carbapenémicos forman parte de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, los cuales poseen elevada resistencia respecto a las  $\beta$ -lactamasas. Los mismos, resultan competentes para eliminar una variedad regularmente extensa de bacterias de tipo aerobias o anaerobias tanto gramnegativas como grampositivas <sup>21</sup>. Asimismo, los dos carbapenems (meropenem e imipenem) son empleados para poder hacer frente a patógenos de tipo gramnegativos multirresistentes, resultando el imipenem con una mayor acción frente a cocos grampositivos, mientras el meropenem frente a bacterias gramnegativas <sup>21</sup>.

De este modo, los carbapenems cuentan con actividad antimicrobiana de amplio espectro y poseen una configuración singular la cual se precisa mediante un carbapenem enlazado a un anillo  $\beta$ -lactámico que le proporciona resguardo frente a la mayor parte de  $\beta$  lactamasas, tales como las metalo- $\beta$ -lactamasas (MBL), además de las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE). Por consiguiente, se

toman en cuenta como un medicamento de mayor confianza en relación al manejo de infecciones bacterianas, lamentablemente ya existen reportes del surgimiento y posterior proliferación de resistencias hacia dichos antibacterianos, representando una significativa problemática de salud pública <sup>22</sup>. Bajo este contexto, los carbapenémicos (biapenem, panipenem, ertapenem, doripenem, meropenem e imipenem) corresponden a antibióticos de tipo  $\beta$ -lactámicos los que tienen eficiencia demostrada en enfermedades graves provocadas por bacterias generadoras de BLEE <sup>23</sup>; y por ello, se encuentran utilizándose debido a que se presenta una mayor resistencia hacia las cefalosporinas por la familia *Enterobacteriaceae* <sup>24</sup>. debido a que cuentan con inhibidores de  $\beta$ - lactamasas, haciendo difícil degradarlos y en consecuencia la terapia del paciente se vea complicada.

En consecuencia, las series inhibitorias fundamentales de PBP son la 1b, 2 y 3; y su impacto mortal generado, resulta la desactivación de la inhibición de enzimas de tipo autolítico en la pared celular, las cuales llevan al deceso de las bacterias. Finalmente, la inhibición de PBP 2 y 3, normalmente acontece a nivel de bacterias gramnegativas que poseen aspecto de bacilo para conformar células de tipo esférico, así como organismos filamentosos <sup>22</sup>.

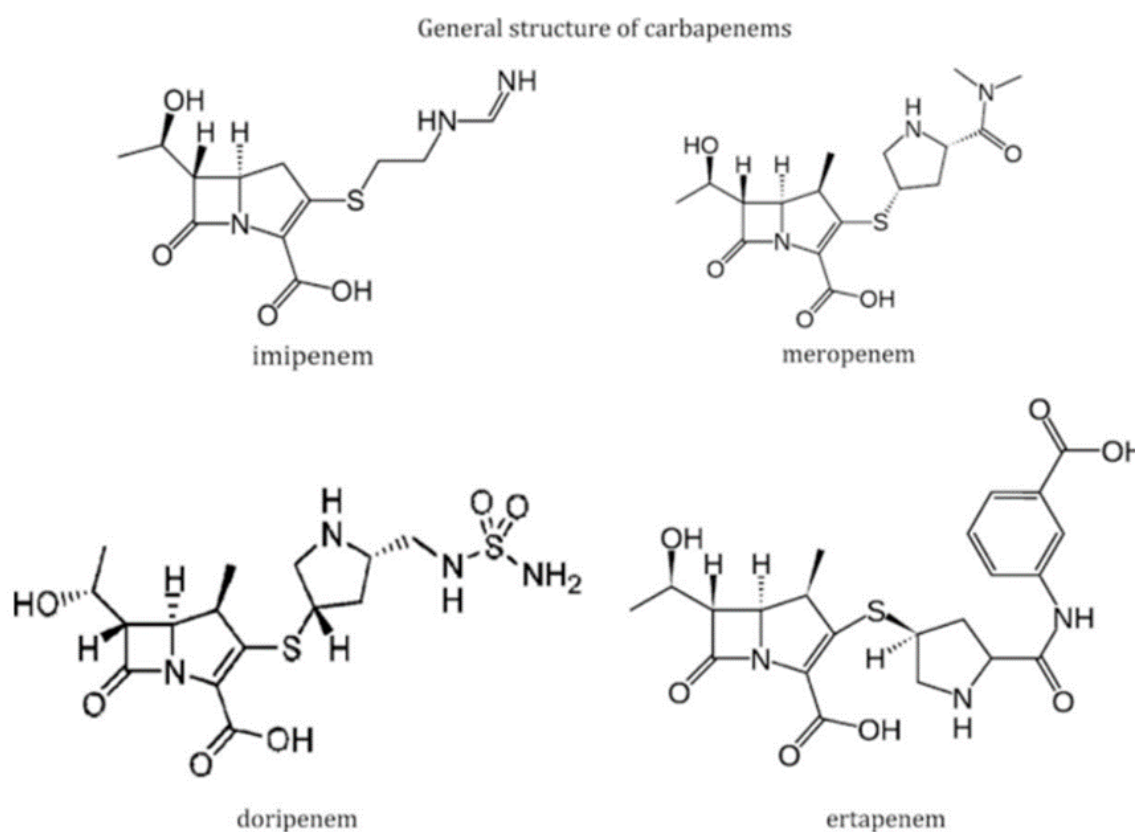
### **2.1.5 Meropenem**

Es un antibacteriano cuya relevancia consiste en otorgar una opción al manejo terapéutico de infecciones complicadas debido a agentes patógenos gramnegativos que presentan resistencia. Corresponde a un tipo antibacteriano  $\beta$ -lactámico (carbapenems) que actúa fundamentalmente sobre la pared bacteriana. Como tal, se ha admitido su prescripción en el manejo terapéutico de diversas infecciones de adultos, las cuales incluyen infecciones complejas a nivel del tracto urinario (ITU) e intraabdominales; neumonía intrahospitalaria, además de bacteriemia asociada a las enfermedades referidas anteriormente. Se prescribe además dentro del manejo terapéutico de problemas provocados por microorganismos aerobias tipo gramnegativas en individuos con alternativas restringidas de medicación <sup>25</sup>.

Los carbapenémicos son los principios activos del grupo de antibióticos  $\beta$ -lactámicos. La configuración molecular única de los carbapenémicos se debe a la presencia de un anillo de carbapenem junto con un anillo de  $\beta$ -lactámico de cuatro miembros <sup>26</sup>.

Los carbapenémicos difieren de las penicilinas convencionales (penams) en no tener átomo de azufre en su anillo de 5 miembros y en tener un doble enlace entre los carbonos <sup>27</sup>

El Meropenem es un dimetilcarbamoil pirrolidinil derivado de la tienamicina <sup>27</sup>. Es importante mencionar la cadena lateral de hidroxietilo de la tienamicina, cuya función principal es conferir protección contra la mayoría de las bacterias<sup>26</sup>. Así mismo el carbono 2 del Meropenem, brinda actividad en bacterias gramnegativas, como *Pseudomonas* <sup>28</sup>.



**Figura 1.** Estructura general de carbapenémicos (traducción de “Clinical Use of Anti-infective Agents” por R. W. Finberg, R. Guharoy) <sup>28</sup>



### **2.1.6 Mecanismos de resistencia bacteriana**

Las bacterias poseen una notable capacidad de adaptación en sus respectivos hábitats, lo que les permite sobrevivir en condiciones adversas. Dentro de estas habilidades sobresalientes está la resistencia tanto a agentes antimicrobianos como a sustancias perjudiciales, incluyendo desinfectantes. La capacidad de una bacteria de seguir reproduciéndose a pesar de la presencia de una sustancia dañina, como un antibiótico o antiséptico, se conoce como resistencia a los antibióticos <sup>29</sup>.

Las bacterias resistentes a los antibióticos se adaptan y cambian en su presencia. Su uso tiene una repercusión directa en esta capacidad. La resistencia de un medicamento a un agente antibiótico puede indicar resistencia a una clase de medicamentos relacionados ya que varios antibióticos comparten la misma categoría farmacológica. Además, la resistencia a los medicamentos puede desarrollarse rápidamente y aleatoriamente dentro de un organismo debido al intercambio de material genético entre las bacterias, lo que puede afectar la eficacia de los antibióticos y causar una variedad de enfermedades. Los microorganismos resistentes a los fármacos podrían propagarse a los seres humanos mediante comestibles, agua y el medio ambiente. El comercio, los viajes, la movilidad de la población y el nomadismo son algunos de los elementos que promueven esta propagación<sup>30</sup>.

Las bacterias, al desarrollar inmunidad a los antibióticos, provocan la disminución de opciones terapéuticas para afecciones complejas de sanar, ocasionando un incremento en el desembolso económico. Dicha inmunidad contra los agentes antibacterianos se observa globalmente y abarca un extenso espectro de microorganismos, con una prevalencia en alza que impacta negativamente en la salud tanto humana como animal. Las consecuencias patentes de un padecimiento originado por microorganismos inmunes pueden ser de carácter severo, incluyendo dolencias de mayor duración, una escalada en la tasa de decesos, períodos extendidos de internación hospitalaria, menoscabo o reducción de la salvaguarda en pacientes sometidos a cirugías o procedimientos médicos, acompañado de un incremento en los gastos económicos. La resistencia a los

antimicrobianos influye en varios sectores del ámbito sanitario, repercutiendo en distintas áreas y afectando al conglomerado poblacional <sup>30</sup>.

En los variados campos de la medicina, es esencial que los facultativos clínicos se mantengan al corriente sobre las innovaciones en las normativas de tratamiento y el uso de agentes antimicrobianos, tanto modernos como tradicionales. El crecimiento de la resistencia microbiana se ha visto impulsado por la presión selectiva inherente al empleo masivo de antibióticos, especialmente en los nosocomios del país, donde las cepas con múltiples mecanismos de resistencia dejan un margen limitado para el tratamiento de infecciones asociadas. Actualmente, se observa una multirresistencia en una amplia gama de microorganismos. La resistencia a los agentes antimicrobianos disminuye la eficiencia de la terapia de la dolencia, complicando así el periodo de convalecencia de los enfermos en las instituciones hospitalarias, incrementando el coste de los fármacos necesarios, prolongando la duración de la hospitalización y elevando el riesgo de fallecimiento<sup>31</sup>.

Los animales criados para alimentación humana, los humanos que se encuentran muy cerca de ellos y los desechos que producen son fuentes potenciales de microorganismos resistentes. La probabilidad de descubrir rápidamente nuevos medicamentos está disminuyendo, mientras que el aguante a estos (en particular, a los antibióticos) está aumentando<sup>30</sup>.

El mal empleo de los antibióticos hace que esta resistencia se desarrolle rápidamente. Según la data acopiada, el empleo de estos en el campo médico está aumentando drásticamente. Según estudios realizados en diferentes países, muchas personas piensan erróneamente que los antibióticos son útiles contra las infecciones virales que causan fiebre, tos y resfriados. Además de ser esenciales para tratar a los animales enfermos, los antimicrobianos también se utilizan a menudo en animales sanos para prevenir enfermedades y, en ciertos países, para promover el crecimiento, particularmente en la producción intensiva de ganado vacuno. Las sanciones comerciales están asociadas con el uso generalizado de antimicrobianos en la agricultura y la pesca. Muchas personas están preocupadas

por los posibles efectos secundarios de los antibióticos, incluida la resistencia a los antimicrobianos y su diseminación en el medio ambiente<sup>30</sup>.

En presencia de antibacterianos, las bacterias utilizan una variedad de estrategias de resistencia, incluida la disminución de la permeabilidad de sus membranas para evitar el acceso a sus objetivos, el incremento de labor de esta bomba, la degradación e inactivación de enzimas y el cambio de los sitios de acción de los antibacterianos<sup>5</sup>. Otros mecanismos de resistencia que pueden utilizar las bacterias incluyen modificaciones intracelulares y control genético cuando estas estrategias de resistencia son ineficaces.<sup>29</sup>

Dentro de los esenciales métodos de resistencia bacteriana, se presentan los siguientes<sup>18</sup>.

- Síntesis de enzimas Betalactamasas, las cuales desactivan las enzimas antes que alcancen el efecto terapéutico. Existen como dos clases estructurales diferentes basadas en su acción, las serin dependientes (Clase A y D según Ambler) y las metalo dependientes (Clase B, llamadas metalobetalactamasas).
- Bombas de expulsión, que actúan removiendo los antibióticos del ambiente celular.
- Porinas de membranas, que restringen la entrada al periplasma.

Además, se han reportado otros mecanismos poco estudiados como:

- Capacidad de formar biopelículas
- Activación del sistema de comunicación intercelular quorum sensing (QS)
- Mecanismos de resistencia en la pared celular
- Cambios en la permeabilidad de las membranas celulares
- Bloqueo de la formación de la estructura celular externa

- Estrategias de salvaguarda a nivel de las unidades ribosomales
- Transformación del área funcional de las enzimas
- Modificaciones en el sitio activo
- Ajustes en el control de la expresión génica <sup>29</sup>.

### 2.1.7. Resistencia a antimicrobianos en *P. aeruginosa*

#### Mecanismos de resistencia intrínseca

Es aquel mecanismo innato que tiene para eliminar la actividad del antimicrobiano de forma estructural y funcional.

Esta modalidad de resistencia es predominante en *P. aeruginosa* en comparación con la mayoría de antibióticos. La bacteria produce acción sobre la permeabilidad de su membrana externa, activa bombas de flujo para expulsar los antibióticos y produce enzimas que inhiben la actividad antibiótica. <sup>32</sup>.

**Tabla 1.** Mecanismos de resistencia intrínseca (traducción de Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020) <sup>33</sup>

β-lactámicos	Penicilinas y combinaciones de β-lactámicos	Ampicilina, amoxicilina, ampicilina/sulbactam, amoxicilina/ácido clavulánico			
	Cefalosporinas de 1º generación	Cefazolina, cefalotina, cefradina, cefadroxilo, cefalexina			
	Cefalosporinas de 2º generación y cefamicinas	Cefuroxima, cefoxitina, cefotetan			
	Cefalosporinas de 3º generación	Ceftriaxona, cefotaxima			
	Carbapenémicos	Ertapenem			
Tetraciclinas y glicilciclinas		Quinolonas	Anfenicoles	Nitrofuranos	Sulfonamidas asociadas a trimetoprima
Tetraciclina, doxiciclina, minociclina, tigeciclina		Ácido nalidíxico, ácido pipemídico	Cloranfenicol	Nitrofurantoína	Trimetoprima/sulfametoxazol (cotrimoxazol)

#### Mecanismos de resistencia adquirida

A diferencia de la resistencia innata o intrínseca, esta resistencia adquirida surge tras el contacto con el antibiótico, lo que lleva a alteraciones y transferencia de los genes cromosómicos.

El mecanismo predominante de resistencia adquirida es la transferencia horizontal de genes. Este proceso ocurre mediante la transformación, transducción y conjugación, donde se transfieren nuevos genes a otro organismo, proporcionando a *Pseudomonas aeruginosa* una mayor capacidad para controlar la absorción y modificar la eficacia de los antimicrobianos<sup>34</sup>.

### **Mecanismos de resistencia adaptativa**

Es el mecanismo que se da cuando la bacteria sobrevive a la exposición con antibióticos y puede alterar la síntesis de proteínas en base a cómo se den las condiciones del ambiente que le rodea.

En el caso de formación de biopelículas, forman células persistentes que hacen más difícil erradicar la enfermedad. Este mecanismo es netamente debido a las condiciones ambientales y modifican la transcripción de *P. aeruginosa*<sup>35</sup>.

**2.2 Antecedentes del estudio.** Existen escasas investigaciones que sirven de referente a la actual investigación, sin embargo, se pueden mencionar los siguientes.

#### **2.2.1 Antecedentes internacionales**

Singh *et al* (2010) evaluaron la penetración de oxacilina, cefotaxima, amikacina, ciprofloxacina y vancomicina por medio de biopelículas de *Staphylococcus aureus* ATCC 35984 y *S. epidermidis* ATCC 35984. Los resultados mostraron que la penetración de oxacilina y cefotaxima (ambos beta-lactámicos) y vancomicina (glucopéptido) se vio significativamente reducida, mientras que la amikacina (aminoglucósido) y ciprofloxacina (fluoroquinolona) no fueron afectados, concluyendo que la penetración en las biopelículas de *Staphylococcus* varía de acuerdo al antibiótico usado<sup>36</sup>.

Cao *et al* (2015) trataron perlas de alginato de algas marinas conteniendo *P. aeruginosa* con tobramicina por 30 minutos, y luego se midió la concentración de antibiótico y se realizaron los recuentos, hallando que fueron menores en las perlas tratadas con antibióticos, aunque las concentraciones de antibiótico en todas las perlas fueron estables, lo que podría significar que según el modelo *in vitro* aplicado

en este estudio, la absorción del antibiótico por la biopelícula fue rápida, y su persistencia podría deberse a otros factores diferentes a la falta de penetración <sup>37</sup>.

Soto Acosta (2019) hizo una exploración minuciosa para descifrar la influencia del alginato, las biopelículas, los procedimientos de expulsión y la manifestación de la proteína OprD en la inmunidad de *P. aeruginosa* frente a los carbapenémicos. El nosocomio zonal del ISSSTE en Puebla suministró 83 especímenes de *P. aeruginosa*, que posteriormente se examinaron usando el método de difusión en disco de Kirby-Bauer para determinar el carácter resistente y estimar la Cantidad Mínima Inhibitoria(CMI); La multiplicación de secuencias genéticas resistentes, la detección de alteraciones genéticas, la valoración de la expresión de la proteína OprD y la implementación de un obstaculizador de la bomba de expulsión constituyen ejemplos de procedimientos análogos. El estudio culminó con el acopio y análisis de biopelículas y alginato mediante el procedimiento del cristal violeta. Las conclusiones de este análisis sugirieron que el decremento de la porina OprD en grupo con los sistemas de expulsión fue el motivo principal de la resistencia al imipenem. El complejo MexAB-OprM emergió como el principal agente causante de la inmunidad al meropenem. Adicionalmente, dos muestras corroboraron la repercusión de mecanismos integrados, tales como las biopelículas y el alginato, que podrían intensificar la resistencia al meropenem. Esta investigación resaltó la relevancia de analizar los mecanismos de resistencia de *P. aeruginosa* que no generan carbapenemasas, ya que esto influye en la disminución de la eficacia terapéutica y en la persistencia de este en el ámbito clínico, dada la complejidad en su mecanismo de acción. <sup>38</sup>.

Heidari *et al* (2022) en su investigación en la casa de estudios de Ciencias Médicas Ahvaz Jundishapur en Irán, determinaron que la resistencia antimicrobiana, la creación de biopelículas y la variabilidad genética de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenem. Para lo cual se recolectaron 115 elementos de *Pseudomonas aeruginosa* asociados a infecciones nosocomiales, a las cuales se les evaluó el perfil de sensibilidad a antibióticos y se determinó las CMI. Tras el análisis se encontró una relación de resistencia a meropenem y formación de biopelículas (95 %) <sup>39</sup>.

## 2.2.2 Antecedentes Nacionales

Castañeda, N. (2017) en su estudio realizado en la Universidad Peruana Cayetano Heredia, investigó la posible correlación entre la administración de un antibiótico y las variaciones en la susceptibilidad de *Pseudomonas aeruginosa*. Para esto, examinó los registros médicos de pacientes y evaluó la sensibilidad basándose en los datos obtenidos del servicio de farmacia, que recopilaba información sobre el uso de antibióticos en la UCI. La investigación comprendió 120 muestras de *Pseudomonas aeruginosa*, procedentes de sujetos aquejados por infecciones nosocomiales en la UCI. Las evidencias revelaron una correlación notable, ya que el uso de antibióticos modifica la sensibilidad de *Pseudomonas aeruginosa* frente al meropenem, constituyéndose esto como un factor esencial para la elucidación de las resistencias constatadas en esta investigación.<sup>40</sup>

Torres M. (2020) realizó una investigación en la Universidad Privada Antenor Orrego en donde se utilizaron 5 cepas de laboratorio y 2 cepas control de *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente, en este estudio se concluyó por análisis estadístico que hay una mayor pendiente en las curvas de capacidad de formar biopelículas por lo que se tiene un mayor efecto del antibiótico ciprofloxacina en la biopelícula de *Pseudomonas aeruginosa* que en su forma planctónica. Asimismo, se comparó en diferentes tiempos (0, 1, 2, 4, 12, 24 y 48 h) el ritmo de crecimiento midiendo la densidad óptica<sup>41</sup>.

## 2.3 Bases teóricas

### 2.3.1 Bacterias gramnegativas

En los años 80, las bacterias de tipo Gramnegativas (-) entre ellas *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, fueron los primeros microorganismos infecciosos en los pacientes<sup>42</sup>. Debido al uso de la quimioterapia de alta intensidad, uso de fluoroquinolonas y vasculares permanentes, tanto estafilococo coagulasa negativos y los *estreptococos viridans* se volvieron los principales agentes<sup>43</sup>.

Existe un problema particular recientemente, la resistencia a los carbapenémicos en bacterias gramnegativas, y el reciente inicio de resistencia a la colistina en *Acinetobacter* y enterobacterias también preocupa. Actualmente, para combatir a

estos agentes gramnegativos se utilizan tigeciclina, primera opción para la FDA que es una glicilciclina y el nuevo carbapenem doripenem <sup>44</sup>.

### 2.3.2 Categorización de las carbapenemasas

Determinadas  $\beta$ -lactamasas, nombradas como carbapenemasas, son capaces de hidrolizar carbapenems de modo eficaz <sup>57</sup>. Los mismos comprenden enzimas de tipo cromosómicas, las cuales se encuentran siempre presentes a nivel de determinados agentes infecciosos fuera de lo común; y en su mayor parte, apartados del entorno (como ejemplo, *B. fragilis*, *Flavobacterium spp.*, *Aeromonas spp.*, *S. maltophilia*, etc.) y Carbapenemasas adquiridas de los tipos A, B y D. Sin embargo, pese a que se han detallado diversas carbapenemasas de tipo C (ADC-68, CMY-10, CMY-2 y ACT-1), sus generadores acostumbra manifestar una sensibilidad disminuida hacia los carbapenémicos como resultado de una reducida eficacia catalítica a nivel de la enzima, así como una deficiencia en su permeabilidad; en consecuencia, no resultan ser tomados en cuenta como reales carbapenemasas <sup>45</sup>.

De este modo, sobre la base de lo expuesto, se tiene que, en función de la composición de su espacio activo, las carbapenemasas se clasifican en dos agrupaciones: categoría A-penicilinasas y clase D-oxacilinasas, las cuales incluyen serina dentro de su espacio activo y resultan inhibidas por inhibidores de tipo  $\beta$ -lactámicos, comprendiendo el tazobactam, así como el ácido clavulánico. La segunda agrupación corresponde a las metalo- $\beta$ -lactamasas, que forman parte de la categoría B, las cuales poseen un átomo de zinc en su espacio activo y resultan inhibidos por quelantes de metales, tales como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) <sup>46</sup>.

La serina carbapenemasas pertenecientes al grupo A molecular (Ambler) resultan infrecuentes, identificadas fundamentalmente a nivel de *Enterobacteriaceae*. Como tales, forman parte del subgrupo funcional 2f, de acuerdo al diseño de categorización <sup>47, 48</sup>. De este modo, los genes codificados por las mismas se encuentran localizados dentro de algún plásmido o cromosoma. Dicha agrupación incluye: a SME-1 (*S. marcescens*)<sup>49</sup>; a SME-2 (*S. marcescens*)<sup>50</sup>;



SME-3 (*S. marcescens*)<sup>51</sup>; IMI-1 (*E. cloacae*)<sup>52</sup>; NMC-A (*E. cloacae*)<sup>53</sup>; KPC-1, KPC-2 y KPC-3 (*K. pneumoniae*)<sup>54, 55, 56</sup>; y, por último, GES-2 (*P. aeruginosa*)<sup>57</sup>. Los mismos, proporcionan resistencia hacia imipenem, aztreonam, cefalosporinas de 1° y 2° generación, ureidopenicilinas y aminopenicilinas; dentro de ellos, el imipenem puede hidrolizarse de forma muy paulatina sin provocar una resistencia que resulte médicamente significativa <sup>58</sup>.

Con relación a lo anterior, se tiene que las enfermedades provocadas por SME positivo en *S. marcescens* deberían de incluir un tratamiento con oximiinocefalosporinas para tratar estas infecciones. Asimismo, las  $\beta$ -lactamasas IMI y NMC, se han identificado eventualmente en pruebas fenotípicas para *E. cloacae* <sup>50, 51</sup>. Las mismas, acorde indican Naas et al. (2016)<sup>58</sup>, resultan encriptadas de forma cromosómica; y jamás han resultado detallados a nivel de elementos genéticos móviles; lo cual justifica sus reportes eventuales a nivel global. Del mismo modo, las clases de  $\beta$ -lactamasas, KPC-1, KPC-2 y KPC-3, son de reciente detección a partir de la aislación de *K. pneumoniae*; distinguiéndose las mismas de otras de clase A, en el hecho de que estas realizan la hidrólisis de cefalosporinas de espectro expandido, además del total de los carbapenémicos <sup>54, 55</sup>. Son inhibidas ligeramente debido al tazobactam, así como al ácido clavulánico; y frecuentemente debido a OXA-1, brindando resistencia hacia conjunciones de inhibidores de  $\beta$ -lactámicos. Además, no resultan inducibles; y son encriptados en plásmidos movilizables. Actualmente, las enzimas resultan significativamente prevalentes, no únicamente se presentan a nivel de *K. pneumoniae* sino además en una cantidad cada vez más grande de *A. baumannii*, *P. aeruginosa* y, *Enterobacteriaceae* <sup>59,60</sup>.

## 2.4 Glosario de términos

Antibacteriano: “Denota a los agentes antimicrobianos, abarcando aquellos de origen parcialmente artificial o completamente fabricados, que exterminan bacterias o inhibe su proliferación” <sup>61</sup>.

Infección: “Invasión y evolución o propagación de un elemento patógeno en el ser de un humano o animal” <sup>62</sup>.

Intrahospitalario: “Contraído dentro de un establecimiento de salud” <sup>63</sup>.

Lactámico  $\beta$  “Género de fármaco antimicrobiano que inhibe la formación del peptidoglucano en la membrana celular microbiana” <sup>63</sup>.

Patógeno: “Entidad microscópica (vírico, bacteriano, parasítico u otro) con potencial para desencadenar patologías” <sup>62</sup>.

Peptidoglucano: “Macromolécula entrelazada de considerable masa que constituye el armazón sólido de la membrana celular de los microbios” <sup>63</sup>.

Prevalencia: “Cómputo integral de individuos (casos recientes y preexistentes) afectados por una dolencia en una colectividad o zona específica en un instante preciso” <sup>62</sup>.

## II. HIPÓTESIS Y VARIABLES

### 3.1. Hipótesis

La evaluación en la penetración de meropenem se muestra afectada debido a la capacidad de formar en biopelículas en *Pseudomonas aeruginosa* inducidas *in vitro*.

### 3.2. Variables

Variable independiente: Biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*

Variable dependiente: Penetración de Meropenem

### 3.3. Operacionalización de variables

**Tabla 2.** Operacionalización de variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador	Valores finales	Escala de Medición
Biopelículas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Comunidades estructuradas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> encerradas en una matriz de polisacáridos de producción propia	Crecimiento de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en tubos	Densidad Óptica (DO)	Productora de biopelícula y No productora de biopelícula	Débil, moderada o fuerte
Penetración de Meropenem	Paso del antibacteriano de tipo carbapenem, a través de una barrera mecánica que impide que ejerza su mecanismo de acción	Paso del Meropenem a través de la biopelícula de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> formada sobre discos de papel whatman	Halo de inhibición	Variación del Halo de inhibición	Medición del Halo de inhibición en mm  % de meropenem que ha penetrado

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **4.1. Área de estudio**

Las Cepas bacterianas provenientes del Hospital Nacional Hipólito Unanue (HNHU), asentado en la demarcación del distrito El Agustino, la cual reposa en la jurisdicción y circunscripción de Lima - Perú; con las coordenadas terrestres 12° 4' 0" Sur, 77° 1' 0" Oeste (en formato decimal -12.066667°, -77.016667°) y con un posicionamiento UTM de 8665267 280480 18L.

#### **4.2. Diseño de investigación**

La presente investigación es de carácter observacional y longitudinal, se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología del Instituto de Química Biológica, Microbiología y Biotecnología "Marco Antonio Garrido Malo", correspondiente a la Facultad de Farmacología y Bioquímica de la UNMSM.

#### **4.3. Población y muestra**

Para este estudio se emplearon 45 cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, extraídos de una diversidad de muestras clínicas (Anexo 1) del Hospital Nacional Hipólito Unanue (HNHU) de Lima, Perú, en el período anual de 2016.

#### **4.4. Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de información**

##### **4.4.1. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS**

Las Muestras de *Pseudomonas aeruginosa* se recolectaron en viales asépticos con Agar Tripticosa Soya (TSA) del Laboratorio de Microbiología del HNHU.

Se recolectaron puntas de catéteres de tubos plásticos estériles de 13 por 100 mm, extraídos de los pacientes, originarios de distintos especímenes clínicos (Anexo 1) del Hospital Nacional Hipólito Unanue (HNHU) Lima, Perú, durante período anual de 2016.

#### **4.4.2. IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA**

Se confirmó la identificación de cepas a través de ensayos microbiológicos como la tinción de Gram, Cultivo en Agar Selectivo Ceftriaxona, Prueba de agar de hierro de Kligler (KIA), crecimiento en Agar MacConkey a capacidad de crecimiento a 42°C.

#### **4.4.3. EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD A MEROPENEM**

Se realizó la selección de *Pseudomonas aeruginosa* de acuerdo a la sensibilidad mediante el método de difusión en disco (Kirby-Bauer), avalada por el CLSI 2018. Esta metodología consiste en inocular y extender mediante con un hisopo aséptico sobre un medio de agar Mueller Hinton (AMH) el cultivo de cepas aisladas ajustado al estándar 0,5 de McFarland. Acto seguido, se posaron sensidiscos de meropenem sobre el mencionado cultivo. Los recipientes se mantuvieron en un régimen de incubación a 35°C durante un ciclo de 24 horas; concluido dicho lapso, se procedió a la medición del Halo de inhibición<sup>64</sup>.

#### **4.4.4. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS**

Se utilizó como un control negativo a la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, conocida por que no es formadora de biopelícula. Se siguió el Protocolo O'Toole-Kolter, que implica la inoculación de 2 mL de una solución con una Densidad Óptica (DO) de 0.02 a 600 nm de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, que habían sido previamente cultivadas en agar TSA durante 24 horas, incubándolas en tubos de borosilicato a 35°C por un periodo de 48 horas. Posteriormente, se llevó a cabo el lavado de los tubos con suero fisiológico y se dejaron secar. A continuación, se añadieron 2.4 mL de cristal violeta al 1% y se mantuvieron en incubación durante 30 min. a temperatura ambiente. Luego, se efectuó un lavado con agua destilada y se permitió su secado; seguidamente, se agregaron 2 mL de etanol al 95% y se realizó la medición de la DO en un espectrofotómetro UV-visible (Thermo Scientific). La cuantificación de las biopelículas se realizó de manera directa, partiendo del principio de que la

intensidad del color en el tubo es proporcional de forma directa a la cantidad de biopelícula formada.<sup>65</sup>

Se realizará la clasificación de las muestras de *Pseudomonas aeruginosa* en base a su capacidad de: No productoras de biopelículas y Productoras de biopelículas, se adoptaron las pautas sugeridas por Stepanovic et al., 2004<sup>66</sup>.

D. O < D. OL= No produce biopelículas (0)

D.OL < D. O < 2D. OL= Producción débil de biopelícula (+)

2D. OL < D. O < 4D. OL= Producción moderada de biopelícula (++)

4D. OL < D. O= Producción fuerte de biopelícula (+++)

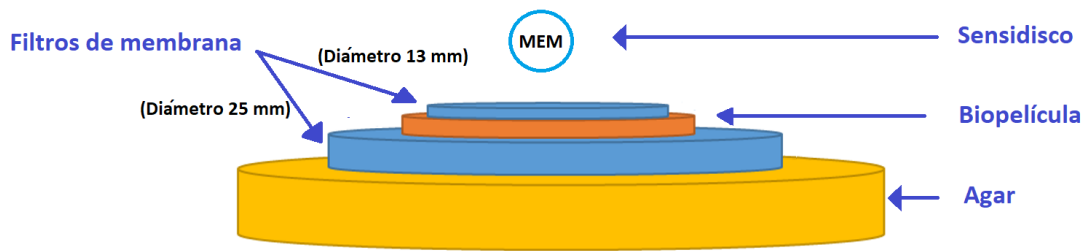
**D. OL:** Densidad óptica correspondiente la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

#### **4.4.5. INDUCCIÓN A LA FORMACIÓN *IN VITRO* DE BIOPELÍCULAS DE *Pseudomonas aeruginosa***

La metodología se basó en el procedimiento de Anderl *et al.*, donde en una superficie con Agar Tripticasa de Soya (TSA) se dispuso un filtro y se aplicaron 40 µL de una solución en PBS (DO de 0,2 a 600 nm) a partir de un cultivo de 24 horas de *Pseudomonas aeruginosa*. Posteriormente, los recipientes de cultivo se reubicaron en una orientación invertida y se sometieron a un ambiente controlado a 35°C por un lapso de 48 horas. Con una periodicidad de cada 12 horas, el filtro se reasignaba a una superficie nueva con agar TSA.<sup>67</sup>

#### **4.4.6. ENSAYO DE PENETRACIÓN DEL ANTIBIÓTICO MEROPENEM**

El procedimiento se efectuó empleando la metodología descrita por Anderl y colaboradores, enfocada en la biopelícula inducida de *Pseudomonas aeruginosa* generada sobre el filtro de 25 mm (Millipore). Se posicionó encima un segundo filtro de menor dimensión, específicamente de 13 mm (Millipore), cubierto a su vez por un disco de meropenem humectado con Caldo Tripticasa Soya (TSB). Este montaje "Sandwich", de biopelícula de *Pseudomonas aeruginosa*, se transfirió a un recipiente con TSA, preservándolo a temperatura ambiente. (figura 2).



**Figura 2.** Diagrama del ensayo de penetración del antibiótico meropenem (elaboración propia)

Tras cada intervalo temporal específico (6 horas y 24 horas), los sensidiscos de meropenem fueron trasladados desde el TSA hasta un Agar Mueller Hinton (AMH) ya inoculado en su superficie con una disolución 0,5 en la escala de McFarland con *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. La placa se mantuvo en incubación a 35°C durante 24 horas y posteriormente se procedió a medir el área de inhibición del crecimiento.

Para el cálculo del porcentaje de penetración se comparó el halo producido por el sensidisco con la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y el halo producido por el sensidisco previamente sometido a la técnica de Anderl por 6 y 24 horas <sup>67</sup>.

#### 4.5. Análisis estadístico

Se utilizó el programa IBM SPSS Statistics 26, se aplicó el test estadístico de T-student pareada con el fin de determinar si hay una variación significativa entre los halos de inhibición producidos por los sensidiscos expuestos al ensayo de penetración en 6h y 24h.

## IV. RESULTADOS

### 5.1. IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA

La procedencia de las cepas fue de Hospitalización 55,56% (25/45), Emergencia 24,44% (11/45), Consultorio externo 6,67% (3/45) y Unidad de Cuidados Intensivos 13,33% (6/45)

La identificación de cada cepa se muestra en el Anexo 1, en el cual se muestran todos los resultados que confirman que son cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. (anexo 1), interpretados como confirmatorios según la tabla 2.

**Tabla 3.** Pruebas de identificación para *Pseudomonas aeruginosa*

Prueba de Identificación	Resultados
Tinción Gram	Bacilos de tipo Gramnegativos (-) , forma alargada
Siembra en KIA	Tonalidad roja en todo el tubo, SH2 (-), Gas(-)
Siembra en agar Selectivo Ceftrimida	Colonias esféricas, Lisos, de márgenes uniformes. Síntesis de colorante verde (Pioverdina)
Cultivo en agar Mac Conkey	Colonias esféricas, transparentes.
Crecimiento a 42°C	Colonias esféricas, lisos, de márgenes uniformes.

Se confirma que la totalidad 100% (45) de las cepas extraídas del Hospital Nacional Hipólito Unanue son pertenecientes a la especie de *Pseudomonas aeruginosa*.

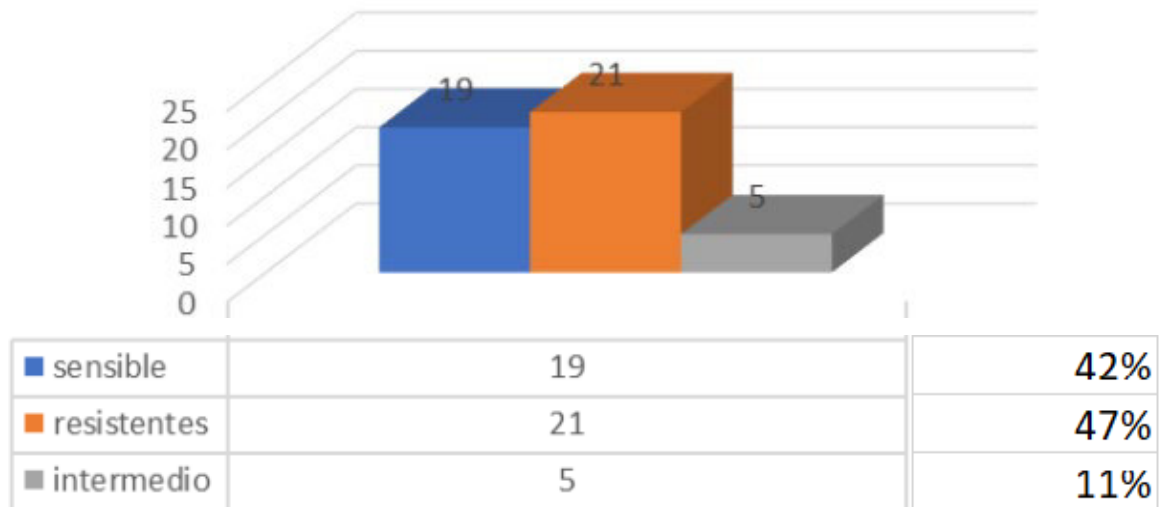


## 5.2. SELECCIÓN DE CEPAS FORMADORA DE BIOPELÍCULAS SENSIBLES A MEROPENEM

S: Sensible R: Resistente I: intermedio

Muestra	Promedio de Halo de Inhibición (mm)	Sensibilidad
M1	16	S
M2	17	S
M3	0	R
M4	15	I
M5	10	S
M6	0	R
M7	20	S
M8	35	S
M9	0	R
M10	0	R
M11	0	R
M12	28	S
M13	15	I
M14	0	R
M15	14	I
M16	15	I
M17	16	S
M18	0	R
M19	0	R
M20	0	R
M21	0	R
M22	0	R
M23	0	R
M24	0	R
M25	25	S
M26	25	S
M27	25	S
M28	25	S
M29	26	S
M30	20	S
M31	20	S
M32	24	S
M33	25	S
M34	30	S
M35	17	S
M36	0	R
M37	0	R
M38	0	R
M39	0	R
M40	0	R
M41	0	R
M42	18	S
M43	14	I
M44	0	R
M45	0	R

**Tabla 4.** Perfil de sensibilidad frente a meropenem



**Figura 3.** Distribución en el perfil de sensibilidad a Meropenem frente a *Pseudomonas aeruginosa*

El análisis se realizó considerando a los criterios prescritos por el CLSI; considerando por norma generalizada, un halo de inhibición que oscila entre 30 a 35 mm señala una cepa sensible, en tanto que los halos de inhibición inferiores a 15 mm son característicos cepas resistentes. Específicamente para *Pseudomonas aeruginosa* y Meropenem, aquellos con menos de 13 mm son resistentes, entre 14-15 mm son de sensibilidad intermedia y aquellos superiores a 16 mm son considerados sensibles. (Anexo 3).

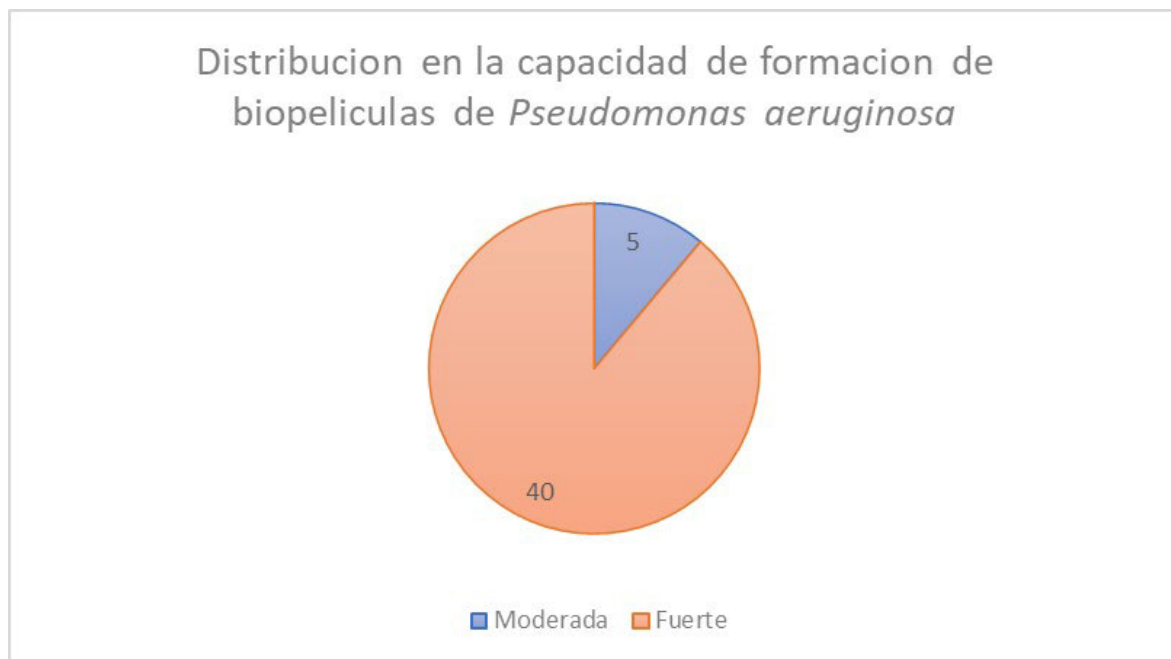
### 5.3. SELECCIÓN DE CEPAS FORMADORAS DE BIOPELÍCULAS

Se observó que el 89% (40/45) de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* adquiridas tenían una DO cuatro veces mayor que la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 28053 (no forma biopelícula), lo que indica una capacidad fuerte para la formación de biopelículas; el 11% (5/45) restante de cepas representan bacterias con moderada capacidad para dicha formación, sirviendo como referencia la DO de 0,11.

**Tabla 5.** Capacidad de formación de biopelículas por cepas de *P. aeruginosa*

Muestra	Promedio Absorbancia	Clasificación	Interpretación de la Capacidad de formación de biopelícula
M1	0.801	+++	Fuerte
M2	0.988	+++	Fuerte
M3	0.921	+++	Fuerte
M4	1.684	+++	Fuerte
M5	0.784	+++	Fuerte
M6	0.474	++	Moderada
M7	0.708	+++	Fuerte
M8	0.853	+++	Fuerte
M9	0.651	+++	Fuerte
M10	0.363	++	Moderada
M11	1.180	+++	Fuerte
M12	0.964	+++	Fuerte
M13	1.080	+++	Fuerte
M14	0.595	+++	Fuerte
M15	1.213	+++	Fuerte
M16	1.011	+++	Fuerte
M17	1.014	+++	Fuerte
M18	1.099	+++	Fuerte
M19	0.437	++	Moderada
M20	0.931	+++	Fuerte
M21	0.961	+++	Fuerte
M22	0.862	+++	Fuerte
M23	0.777	+++	Fuerte
M24	1.029	+++	Fuerte
M25	0.615	+++	Fuerte
M26	0.788	+++	Fuerte
M27	0.998	+++	Fuerte
M28	0.859	+++	Fuerte
M29	1.102	+++	Fuerte
M30	0.587	+++	Fuerte
M31	0.911	+++	Fuerte
M32	0.429	++	Moderada
M33	0.758	+++	Fuerte
M34	0.558	+++	Fuerte
M35	1.012	+++	Fuerte
M36	0.689	+++	Fuerte
M37	0.874	+++	Fuerte
M38	0.828	+++	Fuerte
M39	0.411	++	Moderada
M40	1.003	+++	Fuerte
M41	0.982	+++	Fuerte
M42	0.514	+++	Fuerte
M43	0.617	+++	Fuerte
M44	0.549	+++	Fuerte
M45	0.843	+++	Fuerte

La clasificación de las muestras de *Pseudomonas aeruginosa* se realizó en base a su capacidad de: No productoras de biopelículas y Productoras de biopelículas, se adoptaron las pautas sugeridas por Stepanovic et al., 2004



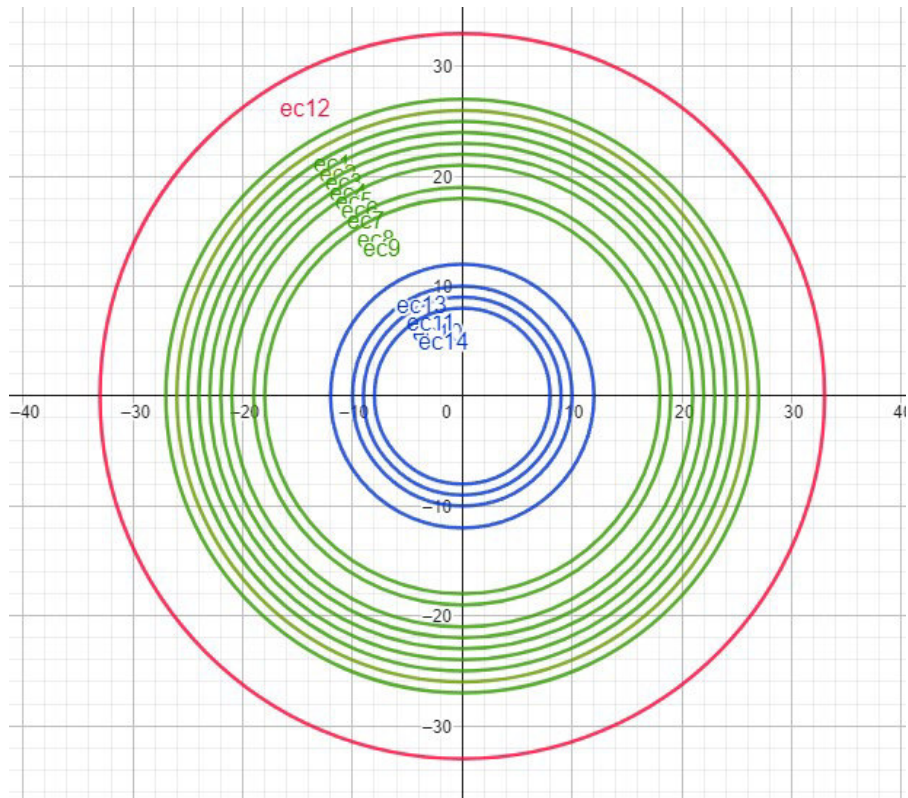
**Figura 4.** Distribución de la capacidad de formación de biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*

#### **5.4. INDUCCIÓN A LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS DE *Pseudomonas aeruginosa* in vitro**

El 100% (45) de las muestras de *Pseudomonas aeruginosa* originarias del HNHU fueron formadoras de biopelículas.

#### **5.5. ENSAYO DE PENETRACIÓN DEL ANTIBIÓTICO MEROPENEM**

Se presenta una relación de halos a las distintas horas comparados con *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.



- Halo de inhibición producido por sensidisco frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853
- Halo de inhibición producido por sensidisco tras ensayo de penetración a las 6 horas frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853
- Halo de inhibición producido por sensidisco tras ensayo de penetración a las 24 horas frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853

**Figura 5.** Superposición de halos de inhibición producidos por sensidiscos de meropenem tras el ensayo de penetración comparado a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

La línea roja representa el halo producido por la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 con el sensidisco de Meropenem que corresponde a una medida de 33 mm. Las líneas de color verde representan los halos producidos por los discos de meropenem luego del ensayo de penetración por 6 horas y después ser expuesto a la cepa de referencia, también se observan las líneas de color azul que representan los halos producidos por el disco de antibiótico luego del ensayo de penetración por 24 horas y después ser expuesto a la cepa de referencia.

<b>Muestra</b>	<b>*Halo en 6 h (mm)</b>	<b>**Porcentaje en 6 h (%)</b>	<b>*Halo en 24 h (mm)</b>	<b>**Porcentaje en 24 h (%)</b>
M1	22	33.33	8	75.76
M2	0	100.00	8	75.76
M3	22	33.33	8	75.76
M4	23	30.30	9	72.73
M5	23	30.30	11	66.67
M6	25	24.24	1	96.97
M7	26	21.21	1	96.97
M8	27	18.18	9	72.73
M9	24	27.27	9	72.73
M10	0	100.00	1	96.97
M11	24	27.27	9	72.73
M12	25	24.24	13	60.61
M13	0	100.00	12	63.64
M14	22	33.33	9	72.73
M15	0	100.00	1	96.97
M16	18	45.45	9	72.73
M17	24	27.27	1	96.97
M18	22	33.33	9	72.73
M19	23	30.30	9	72.73
M20	22	33.33	1	96.97
M21	21	36.36	9	72.73
M22	23	30.30	1	96.97
M23	1	96.97	1	96.97
M24	0	100.00	1	96.97
M25	12	63.64	9	72.73
M26	19	42.42	1	96.97
M27	22	33.33	8	75.76
M28	0	100.00	8	75.76
M29	21	36.36	8	75.76
M30	21	36.36	8	75.76
M31	27	18.18	11	66.67

<b>M32</b>	21	36.36	8	75.76
<b>M33</b>	24	27.27	12	63.64
<b>M34</b>	23	30.30	11	66.67
<b>M35</b>	18	45.45	9	72.73
<b>M36</b>	22	33.33	9	72.73
<b>M37</b>	19	42.42	9	72.73
<b>M38</b>	21	36.36	1	96.97
<b>M39</b>	21	36.36	9	72.73
<b>M40</b>	18	45.45	9	72.73
<b>M41</b>	22	33.33	1	96.97
<b>M42</b>	26	21.21	12	63.64
<b>M43</b>	18	45.45	9	72.73
<b>M44</b>	19	42.42	9	72.73
<b>M45</b>	23	30.30	11	66.67

---

\*Promedio de halo producido por el sensidisco de meropenem después de la exposición a biopelículas de *P. aeruginosa*; \*\*porcentaje de penetración de meropenem a las 6h y 24h a las biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*

La concentración del antibiótico que atravesó a las biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* se evaluó de manera indirecta mediante la comparación de halos de inhibición de los sensidiscos de Meropenem en Agar Mueller Hinton inoculado con la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 .Los resultados mostraron que el antibiótico se propagó lentamente a través del biofilm después de 6 horas de exposición a la prueba de penetración, con solo un promedio del 43,84% de difusión; en cambio, la difusión promedio a las 24 horas fue del 78,32%.

## 5.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

### 1. Formulación de la hipótesis

H0 = No se precisa diferencia elevada entre los halos producidos a por los sensidiscos expuestos a 6h y 24h

H1 = Existe diferencia significativa entre los halos producidos a por los sensidiscos expuestos a 6h y 24h

### 2. Grado de significancia = 5 % =0.05

### 3. Prueba Estadística

T de student muestras pareadas

### 4. Toma de decisión

si  $p < 0,05$  no se acepta la h0

**Tabla 7.** Prueba t de Student - Halos producidos por sensidisco de meropenem

#### Prueba T

[ConjuntoDatos1]

#### Estadísticas de muestras emparejadas

		Media	N	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
Par 1	6HORAS	18,76	45	8,113	1,209
	24 HORAS	9,56	45	1,216	,181

#### Correlaciones de muestras emparejadas

		N	Correlación	Sig.
Par 1	6HORAS & 24 HORAS	45	,088	,566

#### Prueba de muestras emparejadas

		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			
Par 1	6HORAS - 24 HORAS	9,200	8,098	1,207	6,767	11,633	7,621	44	,000



El valor de significancia p por ser menor que 0,05 se rechazaría H0, es decir que existe una diferencia significativa entre los halos producidos por los sensibilizadores de meropenem tras su exposición a las biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*.

## V. DISCUSIONES

Los antimicrobianos deben llegar hasta la bacteria para poder actuar, sin embargo, algunas veces pueden encontrar diversos obstáculos que impiden que lleguen a sus receptores en la célula bacteriana. Así por ejemplo, deben atravesar las capas de polisacáridos que rodean a las biopelículas bacterianas, existiendo la posibilidad que una cantidad de antibiótico quede atrapado en la matriz polisacárida, ingresando menos cantidad de lo necesario, lo que podría estar relacionado con la resistencia por un impedimento de tipo mecánico, sin embargo, no hay evidencias que aseguren lo mencionado, pero se pueden considerar que la resistencia sería producto de la acción de uno o más mecanismos de defensa que presenta una bacteria. Las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* de este estudio, fueron productoras de biopelículas, por lo que se pretendió evaluar si la resistencia a meropenem que presentaban, estaba relacionado con una falta o deficiente penetración del antibiótico <sup>68</sup>.

La mayor cantidad de cepas provinieron de hospitalización (53,33 %), lo que coincide con los estudios anteriores en los que indican que *Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria que tiene mucho impacto hospitalariamente afectando a pacientes en cuidados intensivos o inmunosuprimidos debido a su prevalencia y a los mecanismos de resistencia que presenta a los medicamentos utilizados contra la *Pseudomonas spp.* como el imipenem, meropenem y doripenem. <sup>69, 70, 71, 72</sup>

La OMS publicó un listado en el que da a conocer las bacterias que requieren con urgencia nuevos antibióticos con el fin de impulsar la investigación y desarrollo de estos, entre estas bacterias con capacidad para resistir al tratamiento se encuentra en la Prioridad 1, *Pseudomonas aeruginosa* debido a que genera infecciones graves y hasta mortales<sup>73</sup>, Los resultados de esta investigación son consecuentes con el listado de la OMS y con la realidad del Hospital de del presente estudio, y

más aun considerando el Usar correctamente los antibióticos y estar consciente de los patrones de resistencia comunes y en desarrollo, incluidas las biopelículas, son cruciales dado que esta bacteria se ubica como la tercera infección más aislada según el Estudio de Situación de salud del Hospital Nacional Hipólito Unanue para los años 2020, 2021 y 2022.<sup>74, 4, 75</sup>

Con respecto al comportamiento frente al meropenem, 46,7 % (21/45) presentaron resistencia, que es menor a lo reportado por Ochoa *et al.* En el 2013<sup>76</sup>, en cepas provenientes de muestras pediátricas que presentaron 60,8 % (56/92) de resistencia al mismo antibiótico. Pero, además, lo hallado en este estudio es mayor a lo precisado por Guajardo-Lara *et al*<sup>77</sup> en el 2017 en México, en cuyo estudio reporta 14,2 % (47/330) de resistencia a carbapenémicos, y Álvarez-Otero<sup>78</sup> que en el mismo año en España reportaron que el 22 % (20/91) de cepas resistentes a carbapenémicos y que eran provenientes de urocultivos. Lo que podría indicar que la resistencia está influenciada por factores particulares como por ejemplo si el paciente ha tenido tratamiento previo con carbapenémicos, lo que es usual en hospitalizaciones prolongadas.

El análisis de la capacidad de formar biopelículas se efectuó empleando la técnica O'Toole - Kolter, la cual se basa en la pigmentación de células y exopolisacáridos existentes, es decir, se mide de cuantificando que la tonalidad del tubo es proporcional a la biopelícula formada<sup>65</sup>. No obstante, de acuerdo con Silvestre Ortega (2018), este procedimiento es menos sensible y menos específico. Los enfoques fenotípicos tienen el inconveniente de no hacer posible la identificación de biopelículas, únicamente detectan microorganismos adheridos capaces de producirlas, por lo que sugiere la utilización de técnicas de fluorescencia, microscopía electrónica de barrido o microscopía confocal láser<sup>79</sup>.

En el presente estudio 88,9 % (40/45) presentaron fuerte capacidad de formación de biopelículas, poco más de lo hallado por Ochoa *et al.*<sup>80</sup> que mencionan que 55 % (32/58) fueron altamente formadores y lo relacionaban con el origen de la muestra, siendo la mayoría los que provenían de orina. La formación de biopelículas por esta bacteria, se debe a la presencia del flagelo, pero además por

poseer un pili tipo IV <sup>14</sup> (Paz 2019), ambas estructuras favorecen la adherencia a superficies y posterior creación de biopelículas.

La penetración del Meropenem aumenta de 6 a 24 h, se asemeja a lo indicado por Huayhua M. <sup>81</sup> en el 2018 donde indica que la biopelícula dificulta el paso del antibiótico para ejercer su acción y es semejante a lo indicado en el 2005 por el estudio de Lasa I. <sup>82</sup> en el que propone que la biopelícula altera la velocidad de penetración, no obstante, con el transcurso de las horas es capaz de penetrar la biopelícula y alcanzar a ejercer acción bactericida en su forma planctónica.

El porcentaje de la penetración aumenta de 43,84 % a 78,32 %. En el año 2021 Bolívar A. <sup>83</sup> explica esta inhibición inicial que disminuye con el tiempo, teniendo como uno de los factores principales a la biopelícula, y que mencionan que la continua exposición al antibiótico genera bacterias resistentes. Los estudios de Martos L. (2020) <sup>84</sup> y Villanueva A. (2020) <sup>85</sup> coinciden en que la alta tolerancia de la biopelícula se debe a que entraría a una fase estacionaria en donde disminuye su actividad metabólica haciéndose menos susceptible al antibiótico, debido a que estos actúan en diferentes procesos durante su crecimiento. Asimismo, la matriz extracelular genera un ambiente oportuno para la producción de enzimas inactivadoras del antibiótico.

Según Escandón M. (2022) <sup>86</sup> las biopelículas cuentan con un mecanismo de resistencia que consta de 3 pasos, primero inhibe la penetración del antibiótico reduciendo la permeabilidad, ello se ve en la presente indagación en el que tuvieron que pasar 24 h para que se pueda difundir el antibiótico en un promedio de 78,32 %, luego altera el microambiente secretando enzimas que degradan los antibióticos para que finalmente se generen bacterias resistentes debido a que se favorece la presencia de virulencia y resistencia como consecuencia del estrés.

La presente investigación es de importancia clínica debido que contribuye con evidencia para demostrar que *Pseudomonas aeruginosa* poseería mecanismos que inhiben la completa acción del antibiótico retrasando su efecto y haciendo que estos lleguen a concentraciones sub-inhedoras, lo que impacta en la salud pública debido a que se incrementa la tasa morbilidad y la tasa de mortalidad en individuos hospitalizados. En este estudio la mayor cantidad de muestras provienen del área

de hospitalización (52,38 %), los que son pacientes debilitados con un alto riesgo de adquirir *Pseudomonas aeruginosa* en diferentes ubicaciones anatómicas como la piel, los tejidos subcutáneos, las vías pulmonares , urinarias y también puede invadir las superficies de los elementos de medicina invasiva como el catéter venoso central, generando biopelículas en enfermos crónicos, pacientes mórbidos e inmunodeprimidos aumentando la incidencia de bacteriemia <sup>84, 41, 71, 87</sup>.

Dentro de las principales limitaciones, se tuvo el tamaño de la fue reducido, fue por debajo de investigaciones anteriores, también que no hay una cuantificación directa sino se hace un cálculo indirecto por disminución del halo de inhibición. Sin embargo, es una contribución al estudio de la resistencia a antimicrobianos por mecanismos no intrínsecos ni adquiridos, sino por los llamados mecanismos adaptativos. Finalmente, es importante mencionar que la resistencia tiene como origen muchos factores y la consecuencia de ellos es la manifestación de uno o más mecanismos, lo que hace que los tratamientos convencionales y de primera línea fallen, ocasionando una mayor morbilidad, mayor mortalidad y aumentando el número de casos de resistencias a antibióticos.

## VI. CONCLUSIONES

- Se evaluó la penetración del meropenem en porcentajes a través de la biopelícula fue de 43,84% a las 6 horas; en tanto que la media de propagación tras 24 horas en las cepas formadoras de biopelículas se incrementó a un 78,32 %.
- Se evaluó la sensibilidad obteniendo una diferencia significativa  $p = 0,000$  entre los halos producidos por los sensidiscos de meropenem tras la exposición a la biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* a las 6 horas y 24 horas.
- Se evaluó la capacidad de formar biopelículas de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* provenientes del Hospital Nacional Hipólito Unanue formaron biopelículas, indicando que el 88,9 % (40/45) fueron formadoras fuertes y (5/45) 11,1 % fueron formadoras moderadas.

## VII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios asociados a diversos mecanismos de resistencia a antibióticos y determinar la mejor terapia para los pacientes.
- Evaluar la penetración de otros antibióticos frente a biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Guibert F. Caracterización molecular de la resistencia a carbapenems de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* aisladas del Hospital Maria Auxiliadora – San Juan de Miraflores. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2022
2. Arbilla L. “Estudio de las infecciones nosocomiales provocadas por patógenos resistentes a los antibióticos  $\beta$  -lactámicos más prevalentes en las Unidades de Cuidados Intensivos” [Internet]. Uniovi.es. [citado el 29 de octubre de 2023]. Disponible en: [https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/68334/TFM\\_Leyre\\_ArbillaEchalecu.pdf?sequence=4](https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/68334/TFM_Leyre_ArbillaEchalecu.pdf?sequence=4)
3. Mapa microbiológico 2018, departamento de patología clínica y anatomía patológica - Hospital Nacional Hipólito Unanue. [citado el 29 de octubre de 2023]. Disponible en: <http://www.hnhu.gob.pe/Inicio/wp-content/uploads/2016/12/mapa-microbiologico-2018.pdf>
4. Torres J, Soto C, Asis D, Fernández Malpartida A. Análisis situacional de salud hospitalario 2021, oficina de epidemiología y salud ambiental- Hospital Nacional Hipólito Unanue. [citado el 29 de octubre de 2023]. Disponible en: <http://www.hnhu.gob.pe/Inicio/wp-content/uploads/2016/04/ASIS-2021-FINAL.pdf>
5. Marcela K, Monge M. Carbapenémicos: tipos y mecanismos de resistencia bacteriana [Internet]. Medigraphic.com. [citado el 30 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc-2013/rmc134i.pdf>
6. MINSA. Riesgo de infecciones asociadas a la atención de la salud causadas por *Enterobacterales*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter spp.* coproductoras de carbapenemasas en el Perú. [citado el 29 de octubre de 2023]. Disponible en: [https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/alertas/alertas\\_20221\\_07\\_20354\\_8.pdf](https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/alertas/alertas_20221_07_20354_8.pdf)

7. OPS. Alerta Epidemiológica: Emergencia e incremento de nuevas combinaciones de carbapenemasas en Enterobacterales en Latinoamérica y el Caribe - 22 octubre 2021 [Internet]. Paho.org. [citado el 29 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/alerta-epidemiologica-emergencia-e-incremento-nuevas-combinaciones-carbapenemasas>
8. MINSA, Boletín epidemiológico del Perú 2021 [citado el 29 de octubre de 2023]. Disponible en: [https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/boletin/boletin\\_202143\\_02\\_1949\\_45.pdf](https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/boletin/boletin_202143_02_1949_45.pdf)
9. Guerrero Vergel A, Isaza A, Buitrago D. Microorganismos y perfiles de resistencia en aislamientos de infecciones quirúrgicas intraabdominales en un Hospital de Bogotá – Colombia, 2017 – 2018. 2018.
10. Fernández Betancourt Y, Cardoso Aguilar E, Fernández Falcón L, Martínez Dedieu D. Utilización de la terapéutica antimicrobiana. Algunas consideraciones. Rev Inf Científica [Internet]. 2015 [cited 2023 Mar 21];91(3):606–20. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6027574>
11. Whitman W, editor. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. Wiley; 2015.
12. Mesquita C, Soares-Castro P, Santos P. *Pseudomonas aeruginosa*: phenotypic flexibility and antimicrobial resistance [Internet]. Unpublished; 2013. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.13140/2.1.3099.2167>
13. Vander C, Piérard A, Kley M, Haas D. *Pseudomonas aeruginosa* mutants affected in anaerobic growth on arginine: evidence for a four-gene cluster encoding the arginine deiminase pathway. J Bacteriol [Internet]. 1984;160(3):928–34. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/jb.160.3.928-934.1984>

14. Paz-Zarza V, Mangwani-Mordani S, Martínez-Maldonado A, Álvarez-Hernández D, Solano-Gálvez SG, Vázquez-López R. *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. Rev Chilena Infectol [Internet]. 2019;36(2):180–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182019000200180>
15. Gellatly S, Hancock R. *Pseudomonas aeruginosa*: new insights into pathogenesis and host defenses. Pathog Dis [Internet]. 2013;67(3):159–73. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/2049-632x.12033>
16. Jawetz, Melnick & Adelberg Microbiología Médica, 28e [Internet]. Mhmedical.com. [citado el 27 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://accessmedicina.mhmedical.com/book.aspx?bookid=2955>
17. Zhanel G, Wiebe R, Dilay L, Thomson K, Rubinstein E, Hoban DJ, et al. Comparative review of the carbapenems. Drugs [Internet]. 2007;67(7):1027–52. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2165/00003495-200767070-00006>
18. Armstrong T, Fenn S, Hardie K. JMM Profile: Carbapenems: a broad-spectrum antibiotic: This article is part of the JMM Profiles collection. J Med Microbiol [Internet]. 2021;70(12). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.001462>
19. Espinoza D, Esparza G. Resistencia enzimática en *Pseudomonas aeruginosa*, aspectos clínicos y de laboratorio. Rev Chilena Infectol [Internet]. 2021 [citado el 27 de octubre de 2023];38(1):69–80. Disponible en: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-10182021000100069](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182021000100069)
20. Vaishya R, Chauhan M, Vaish A. Bone cement. J Clin Orthop Trauma [Internet]. 2013;4(4):157–63. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcot.2013.11.005>
21. Schmid M, Steiner O, Fasshold L, Goessler W, Holl A-M, Kühn K-D. The stability of carbapenems before and after admixture to PMMA-cement used for replacement surgery caused by Gram-negative bacteria. Eur J Med Res



[Internet]. 2020;25(1). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s40001-020-00428-z>

- 22.** Codjoe F, Donkor E. Carbapenem resistance: A review. *Med Sci (Basel)* [Internet]. 2017;6(1):1. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/medsci6010001>
- 23.** Hawkey Pgg, Livermore DM. Carbapenem antibiotics for serious infections. *BMJ* [Internet]. 2012;344(may31 1): e3236–e3236. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.e3236>
- 24.** Patel G, Bonomo RA. “Stormy waters ahead”: global emergence of carbapenemases. *Front Microbiol* [Internet]. 2013;4. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2013.00048>
- 25.** Aparicio Hernández R, García Luque A, López Honduvilla FJ, Sánchez Jimenez FJ. Evaluación positiva de medicamentos: septiembre, octubre y noviembre 2016. *Sanid Mil* [Internet]. 2017 [citado el 28 de octubre de 2023];73(1):31–9. Disponible en: [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1887-85712017000100006](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1887-85712017000100006)
- 26.** Thomas S, editor. *Antimicrobial Resistance: Global Challenges and Future Interventions*. Singapore: Springer Singapore; 2020.
- 27.** Paul A, Anandabaskar N, Mathaiyan J, Raj GM, editores. *Introduction to basics of pharmacology and toxicology: Volume 2: Essentials of systemic pharmacology: From principles to practice*. Singapore: Springer Nature Singapore; 2021.
- 28.** Finberg RW, Guharoy R. *Clinical use of anti-infective agents: A guide on how to prescribe drugs used to treat infections*. Cham: Springer International Publishing; 2021

29. Troncoso C, Pavez M, Santos A, Salazar R, Barrientos Díaz L. Implicancias estructurales y fisiológicas de la célula bacteriana en los mecanismos de resistencia antibiótica. *Int J Morphol*. 2017;35(4):1214–23.
30. Organización Mundial de la Salud. Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos. Ginebra; 2016.
31. Serra M. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. *Rev habanera cienc médicas [Internet]*. 2017 [citado el 28 de octubre de 2023];16(3):402–19. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1729-519X2017000300011](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000300011)
32. Siddhardha B, Dyavaiah M, Syed A, editores. Model organisms for microbial pathogenesis, biofilm formation and antimicrobial drug discovery. Singapore: Springer Singapore; 2020.
33. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. CLSI supplement M100., editor. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020; 1-332. <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
34. Ramos J-L, Goldberg JB, Filloux A, editores. *Pseudomonas*: Volume 7: New aspects of *Pseudomonas* biology. Dordrecht: Springer Netherlands; 2015.
35. Wu W, Jin Y, Bai F, Jin S. *Pseudomonas aeruginosa*. En: *Molecular Medical Microbiology*. Elsevier; 2015. p. 753–67.
36. Singh R, Ray P, Das A, Sharma M. Penetration of antibiotics through *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *J Antimicrob Chemother [Internet]*. 2010;65(9):1955–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkq257>
37. Cao B, Christophersen L, Thomsen K, Sønderholm M, Bjarnsholt T, Jensen PØ, et al. Antibiotic penetration and bacterial killing in a *Pseudomonas aeruginosa* biofilm model. *J Antimicrob Chemother [Internet]*. 2015;70(7):2057–63. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkv058>
38. Soto Acosta FM, Soto Acosta FM. Participación de bombas de expulsión, biofilm, alginato y expresión de la proteína OprD en la resistencia a antibióticos en *Pseudomonas aeruginosa*. 2019 [citado el 1 de septiembre

de 2023]; Disponible en:  
<https://repositorioinstitucional.buap.mx/items/b654122f-c8cf-41c7-90ef-032a374dea76>

39. Heidari R, Farajzadeh Sheikh A, Hashemzadeh M, Farshadzadeh Z, Salmanzadeh S, Saki M. Antibiotic resistance, biofilm production ability and genetic diversity of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from nosocomial infections in southwestern Iran. Mol Biol Rep [Internet]. 2022;49(5):3811–22. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-022-07225-3>
40. Castañeda A. “Correlación entre el uso de antibióticos y cambios en la sensibilidad de *Pseudomonas aeruginosa* aislada de infecciones nosocomiales en la unidad de cuidados intensivos del Hospital Víctor Lazarte Echegaray 2009-2014” tesis para optar el grado de maestro en medicina con mención en enfermedades infecciosas y tropicales [Internet]. Edu.pe. [citado el 1 de septiembre de 2023]. Disponible en: [https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/995/Correlacion\\_CastanedaSabogal\\_Alex.pdf](https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/995/Correlacion_CastanedaSabogal_Alex.pdf)
41. Torres M. Efecto de la ciprofloxacina sobre *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente en crecimiento planctónico o en biofilm. Universidad Privada Antenor Orrego - UPAO; 2021.
42. Cornely OA, Hoenigl M, editores. Infection Management in Hematology. Cham: Springer International Publishing; 2021.
43. Bassetti M, Ginocchio F, Mikulska M. New treatment options against gram-negative organisms. Corit Care [Internet]. 2011 [citado el 28 de octubre de 2023];15(2):215. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/cc9997>
44. Aldžić A, Jukić H, Dedić K, Dubinović-Rekić A. Research of antimicrobial resistance of clinical important multi-resistant gram negative bacterial isolates in the Una-Sana canton area. En: Lecture Notes in Networks and Systems. Cham: Springer International Publishing; 2019. p. 575–82.
45. Poirel L. Biochemical analysis of the ceftazidime-hydrolysing extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-15 and of its structurally related beta-lactamase CTX-M-3. J Antimicrob Chemother [Internet]. 2002;50(6):1031–4. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dfk240>

46. Diene SM, Rolain J-M. Carbapenemase genes and genetic platforms in Gram-negative bacilli: Enterobacteriaceae, Pseudomonas and Acinetobacter species. Clin Microbiol Infect [Internet]. 2014;20(9):831–8. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X14650874>
47. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother [Internet]. 1995;39(6):1211–33. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/aac.39.6.1211>
48. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of  $\beta$ -lactamases. Antimicrob Agents Chemother [Internet]. 2010;54(3):969–76. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/aac.01009-09>
49. Naas T, Nordmann P. Analysis of a carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase from Enterobacter cloacae and of its LysR-type regulatory protein. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 1994;91(16):7693–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.91.16.7693>
50. Gales AC, Jones RN, Forward KR, Liñares J, Sader HS, Verhoef J. Emerging importance of multidrug-resistant Acinetobacter species and Stenotrophomonas maltophilia as pathogens in seriously ill patients: Geographic patterns, epidemiological features, and trends in the SENTRY antimicrobial surveillance program (1997–1999). Clin Infect Dis [Internet]. 2001;32(s2): S104–13. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1086/320183>
51. Queenan AM, Shang W, Schreckenberger P, Lolans K, Bush K, Quinn J. SME-3, a novel member of the Serratia marcescens SME family of carbapenem-hydrolyzing  $\beta$ -lactamases. Antimicrob Agents Chemother [Internet]. 2006;50(10):3485–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/aac.00363-06>
52. Nordmann P, Mariotte S, Naas T, Labia R, Nicolas MH. Biochemical properties of a carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase from Enterobacter cloacae and cloning of the gene into Escherichia coli. Antimicrob Agents Chemother [Internet]. 1993;37(5):939–46. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/aac.37.5.939>

53. Prottumarthy S, Moland ES, Jeretschko S, Swanzy R, Thomson KS, Fritsche TR. NMC-A carbapenem-hydrolyzing enzyme in *Enterobacter cloacae* in North America. *Emerging Infectious Diseases*. 2003; 9:998-1002
54. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing  $\beta$ -lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2001;45(4):1151–61. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/aac.45.4.1151-1161.2001>
55. Woodford N, Ward ME, Kaufmann ME, Turton J, Fagan EJ, James D, et al. Community and hospital spread of *Escherichia coli* producing CTX-M extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the UK. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2004;54(4):735–43. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkh424>
56. Yigit N, Aktas E, Ayyildiz A. Antifungal activity of toothpastes against oral *Candida* isolates. *J Mycol Med* [Internet]. 2008;18(3):141–6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2008.06.003>
57. Poirel L, Girlich D, Naas T, Nordmann P. OXA-28, an extended-spectrum variant of OXA-10  $\beta$ -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* and its Plasmid- and integron-located gene. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2001 [citado el 20 de octubre de 2023];45(2):447–53. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11158739/>
58. Naas T, Dortet L, Lorga B. Structural and functional aspects of class A carbapenemases. *Curr Drug Targets* [Internet]. 2016;17(9):1006–28. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2174/1389450117666160310144501>
59. Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2009;9(4):228–36. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(09\)70054-4](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(09)70054-4)
60. Parisi R, Rutter MK, Lunt M, Young HS, Symmons DPM, Griffiths CEM, et al. Psoriasis and the risk of major cardiovascular events: Cohort study using the clinical practice research datalink. *J Invest Dermatol* [Internet]. 2015;135(9):2189–97. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/jid.2015.87>

- 61.** Organización Mundial de la Salud - OMS. Antimicrobianos de importancia crítica para la medicina humana [Internet]. 2019 [cited 2022 Oct 12]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331531/9789243515526-spa.pdf?sequence=5&isAllowed=y>
- 62.** Organización Panamericana de la Salud. COVID-19 Glosario sobre brotes y epidemias. Un recurso para periodistas y comunicadores - OPS/OMS [Internet]. 2020 [cited 2022 Oct 11]. Available from: <https://www.paho.org/es/documentos/covid-19-glosario-sobre-brotes-epidemias-recurso-para-periodistas-comunicadores>
- 63.** Ahmad N, Drew WL, Lagunoff M, Pottinger P, Reller LB, Sterling CR. Sherris. Microbiología médica [Internet]. 2017 [cited 2020 Feb 29]. Available from: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2169&sectionid=162978735>
- 64.** Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically [Internet]. Clsi.org. Edition 13th [citado el 28 de octubre de 2023]. Disponible en: [https://clsi.org/media/1928/m07ed11\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/1928/m07ed11_sample.pdf)
- 65.** O'Toole GA, Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. *Mol Microbiol* [Internet]. 1998;28(3):449–61. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00797.x>
- 66.** Stepanovic S, Cirkovic I, Ranin L, Svabic-Vlahovic M. Biofilm formation by *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on plastic surface. *Lett Appl Microbiol* [Internet]. 2004;38(5):428–32. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765x.2004.01513.x>
- 67.** Anderl JN, Franklin MJ, Stewart PS. Role of antibiotic penetration limitation in *Klebsiella pneumoniae* biofilm resistance to ampicillin and ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2000;44(7):1818–24. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/aac.44.7.1818-1824.2000>
- 68.** Navarrete J., Pinilla G., Muñoz L. Formación de biopelícula como mecanismo de persistencia y resistencia bacteriana. 1a ed. Bogotá: Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, 2021. [Internet]. Edu.co. [citado el 3 de noviembre de 2023]. Disponible en:

[https://repositorio.unicolmayor.edu.co/bitstream/handle/unicolmayor/5569/5\\_Formacion%20de%20Biopelicula%20como%20Mecanismo%20de%20Persistencia%20y%20Resistencia%20Bacteriana%202021%20WEB.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unicolmayor.edu.co/bitstream/handle/unicolmayor/5569/5_Formacion%20de%20Biopelicula%20como%20Mecanismo%20de%20Persistencia%20y%20Resistencia%20Bacteriana%202021%20WEB.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

69. Tisoc M, Zuñiga L. Factores asociados a la infección por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente derivada de la atención en áreas críticas en los hospitales del MINSA [Internet]. [citado el 29 de octubre de 2023]. Disponible en:  
[https://repositorio.uandina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12557/3397/Mar\\_2020%20%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.uandina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12557/3397/Mar_2020%20%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
70. Loyola S, Martell S. Prevalencia de *Pseudomonas aeruginosa* multidrogo resistente aisladas de muestras de sangre de pacientes del instituto nacional de enfermedades neoplásicas durante el periodo de 2016 al 2018. Facultad de Medicina [Internet]. 2020 [citado el 29 de octubre de 2023];104308–104308. Disponible en: <https://duict.upch.edu.pe/revision-ug/index.php/FAMED/article/view/791>
71. Bush L, Vazquez M. Infecciones por *Pseudomonas* y patógenos relacionados [Internet]. Manual MSD versión para profesionales. [citado el 29 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es-pe/professional/enfermedades-infecciosas/bacilos-gramnegativos/infecciones-por-pseudomonas-y-pat%C3%B3genos-relacionados>
72. Hernández A, Yagüe G, Vázquez E, Simón M, Parrado L, Canteras M, et al. Infecciones nosocomiales por *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente incluido carbapenémicos: factores predictivos y pronósticos. Estudio prospectivo 2016-2017. Revista Española de Quimioterapia. 2018;31(2):123.
73. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed [Internet]. Who.int. [citado el 29 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
74. MINNSA. Documentos técnicos de análisis situacional de salud 2020. [citado el 29 de octubre de 2023]. Disponible en:

<http://www.hnhu.gob.pe/Inicio/wp-content/uploads/2016/04/RD-104-2021-HNHU-DG-ASIS-2020.pdf.pdf>

75. MINSA. Documentos técnicos de análisis situacional de salud 2022. [citado el 29 de octubre de 2023]. Disponible en: <http://www.hnhu.gob.pe/Inicio/wp-content/uploads/2016/04/ASIS-2022.pdf>
76. Ochoa, C., Castejon, V., Sumalla, E. C. y Blanco, I. (2013). Posttraumatic growth in cancer survivors and their significant others: Vicarious or secondary growth? *Terapia Psicológica*, 31, 81– 92. doi:10.4067/S0718-48082013000100008
77. Perez L, Guajardo-Lara C, Hernández-Galván N, Ayala-Gaytán J, Valdovinos-Chávez S. Susceptibilidad a ceftolozano-tazobactam y ceftazidima-avibactam de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos. *Rev Inst Salud Pública Chile* [Internet]. 2017;1(1). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.34052/rispch.v1i1.108>
78. Otero J, Ferreiro J, González L, Conde I, Soneira M, Blanco A, et al. Resistencia a carbapenemas en *Pseudomonas aeruginosa* aisladas en urocultivos: prevalencia y factores de riesgo. *Rev Esp Quimioter* [Internet]. 2017 [citado el 30 de octubre de 2023];30(3):183–94. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6317082>
79. Ortega S, Hernández E. Biopelículas microbianas y su impacto en áreas médicas: fisiopatología, diagnóstico y tratamiento. *Bol Med Hosp Infant Mex* [Internet]. 2019;75(2). Disponible en: <https://www.scielo.org.mx/pdf/bmim/v75n2/1665-1146-bmim-75-02-79.pdf>
80. Jarama B. Factores de virulencia de *Pseudomonas aeruginosa* productora de metalcarbapenemasas aisladas del Hospital Nacional Hipólito Unanue en el año 2016. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2022
81. Garay A, Soto B. Investigación facultad de tecnología médica [Internet]. 2018 [citado 2023 Oct 30]. disponible en: <https://repositorio.unfv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13084/2318/HUAYHUA%20MIRADA%20ROSMERI%20Y%20TORRES%20LOPEZ%20JACKLYN.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
82. Lasa I, Pozo JL del, Penadés JR, Leiva J. Biofilms bacterianos e infección. *Ao Sist Sanit Navar* [Internet]. 2005 [citado el 30 de octubre de



- 2023];28(2):163–75. Disponible en:  
[https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1137-662720050003000](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-662720050003000)
- 83.** Bolivar A, Torres M, Sanches Y. Biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* como mecanismos de resistencia y tolerancia a antibióticos. Revisión narrativa [Internet]. scholar.google.es. [cited 2023 Oct 30]. Available from: [https://scholar.google.es/citations?view\\_op=view\\_citation&hl=es&user=qj0G0cAAAAJ&citation\\_for\\_view=qj0G0cAAAAJ:W7OEmFM1HYC](https://scholar.google.es/citations?view_op=view_citation&hl=es&user=qj0G0cAAAAJ&citation_for_view=qj0G0cAAAAJ:W7OEmFM1HYC)
- 84.** Martos L. Biopelículas en tejido pulmonar: ¿consiguen los liposomas reducir la resistencia microbiana? [Internet]. Idus.us.es. [citado el 30 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/104040/MARTOS%20CARRASC%20LAURA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 85.** Villanueva A. Efecto antibiótico sobre la dinámica de formación de biofilm endodóntico [Internet]. Universidad de Valencia. [citado el 30 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://roderic.uv.es/bitstream/handle/10550/77753/Tesis%20Doctoral%20%20C3%81lvaro%20Villanueva%20Castellote.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 86.** Escandon M, Peña M, Cazar M. Formación de biopelículas y mecanismo de quorum sensing como estrategia de resistencia microbiana- Revisión bibliográfica. Universidad de Cuenca Ecuador. [citado el 30 de octubre de 2023]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/40059/1/Trabajo-de-Titulaci%C3%B3n.pdf>
- 87.** Delgado E. Análisis de la composición de biopelícula y su papel en la resistencia a los antibióticos en los estafilococos coagulasa negativos causantes de bacteriemias. Universidad Autónoma de Nuevo León. [citado el 30 de octubre de 2023]. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/23550/1/1080144361.pdf>

## IX. ANEXOS

### Anexo 1. Origen de la muestra

MUESTRA	ORIGEN	LOCALIZACION
M1	BRONQUIAL	HOSPITALIZACIÓN
M2	TRAQUEAL	UCI
M3	BRONQUIAL	HOSPITALIZACIÓN
M4	TRAQUEAL	HOSPITALIZACIÓN
M5	ESPUTO	HOSPITALIZACIÓN
M6	BRONQUIAL	HOSPITALIZACIÓN
M7	TRAQUEAL	EMERGENCIA
M8	LÍQUIDO PLEURAL	EMERGENCIA
M9	LÍQUIDO ABDOMINAL	UCI
M10	LÍQUIDO PLEURAL	HOSPITALIZACIÓN
M11	HERIDA	HOSPITALIZACIÓN
M12	BRONQUIAL	EMERGENCIA
M13	TRAQUEAL	UCI
M14	DREN	HOSPITALIZACIÓN
M15	BRONQUIAL	HOSPITALIZACIÓN
M16	CATÉTER CENTRAL	EMERGENCIA
M17	BRONQUIAL	HOSPITALIZACIÓN
M18	ORINA CHORRO MEDIO	EMERGENCIA
M19	ORINA CHORRO MEDIO	CONSULTORIO EXTERNO
M20	ORINA CHORRO MEDIO	CONSULTORIO EXTERNO
M21	SECRECIÓN	HOSPITALIZACIÓN
M22	TRAQUEAL	HOSPITALIZACIÓN
M23	ULCERA	HOSPITALIZACIÓN
M24	HERIDA	HOSPITALIZACIÓN
M25	BRONQUIAL	EMERGENCIA
M26	HERIDA	HOSPITALIZACIÓN
M27	BRONQUIAL	UCI
M28	ORINA CHORRO MEDIO	EMERGENCIA
M29	BRONQUIAL	HOSPITALIZACIÓN
M30	TRAQUEAL	HOSPITALIZACIÓN
M31	BRONQUIAL	EMERGENCIA
M32	TRAQUEAL	HOSPITALIZACIÓN
M33	TRAQUEAL	HOSPITALIZACIÓN
M34	BRONQUIAL	HOSPITALIZACIÓN
M35	BRONQUIAL	UCI
M36	TRAQUEAL	UCI
M37	TRAQUEAL	HOSPITALIZACIÓN
M38	ORINA CHORRO MEDIO	HOSPITALIZACIÓN
M39	BRONQUIAL	HOSPITALIZACIÓN
M40	ORINA CHORRO MEDIO	EMERGENCIA
M41	BRONQUIAL	HOSPITALIZACIÓN
M42	ORINA CHORRO MEDIO	CONSULTORIO EXTERNO
M43	SECRECIÓN	EMERGENCIA
M44	TRAQUEAL	EMERGENCIA
M45	TRAQUEAL	EMERGENCIA

## Anexo 2. Resultados Prueba de identificación

Muestra	Tinción Gram	Agar Cetrimide	Agar Mc Conkey	42°C
M1	+	+	+	+
M2	+	+	+	+
M3	+	+	+	+
M4	+	+	+	+
M5	+	+	+	+
M6	+	+	+	+
M7	+	+	+	+
M8	+	+	+	+
M9	+	+	+	+
M10	+	+	+	+
M11	+	+	+	+
M12	+	+	+	+
M13	+	+	+	+
M14	+	+	+	+
M15	+	+	+	+
M16	+	+	+	+
M17	+	+	+	+
M18	+	+	+	+
M19	+	+	+	+
M20	+	+	+	+
M21	+	+	+	+
M22	+	+	+	+
M23	+	+	+	+
M24	+	+	+	+
M25	+	+	+	+
M26	+	+	+	+
M27	+	+	+	+
M28	+	+	+	+
M29	+	+	+	+
M30	+	+	+	+
M31	+	+	+	+
M32	+	+	+	+
M33	+	+	+	+
M34	+	+	+	+
M35	+	+	+	+
M36	+	+	+	+
M37	+	+	+	+
M38	+	+	+	+
M39	+	+	+	+
M40	+	+	+	+
M41	+	+	+	+
M42	+	+	+	+
M43	+	+	+	+
M44	+	+	+	+
M45	+	+	+	+

### Anexo 3. Antibiograma de las muestras utilizadas

Muestra	CAZ	CP	ATM	GEN	FEP	LUX	TOB	IPM	COL	TZP
M1	18	R	20	16	S	6	20	14	18	S
M2	6	R	8	6	I	6	6	6	17	S
M3	15	R	9	6	I	11	6	6	15	S
M4	14	R	12	6	I	6	6	6	18	S
M5	6	R	10	6	I	6	6	6	16	S
M6	6	R	13	6	I	8	6	6	17	S
M7	25	S	26	22	S	30	24	12	16	S
M8	31	S	6	6	I	34	6	6	17	S
M9	16	R	12	6	I	6	6	6	17	S
M10	9	R	6	6	I	6	6	6	17	S
M11	6	R	12	6	I	8	6	6	13	R
M12	6	R	8	6	I	6	6	9	16	S
M13	22	S	21	6	I	11	6	8	16	S
M14	6	R	6	12	I	6	6	6	17	S
M15	12	R	6	6	I	6	6	6	17	S
M16	24	S	24	21	S	25	24	9	18	S
M17	24	S	25	20	S	35	23	10	17	S
M18	6	R	13	6	I	6	6	6	17	S
M19	21	S	19	15	S	6	15	6	17	S
M20	6	R	12	12	I	6	6	6	12	R
M21	6	R	6	6	I	6	6	6	16	S
M22	14	R	11	6	I	6	6	6	18	S
M23	15	R	12	6	I	11	6	6	18	S
M24	6	R	6	6	I	11	15	R	12	R
M25	26	S	36	18	S	30	21	S	17	S
M26	30	S	34	20	S	30	23	S	15	S
M27	14	R	8	6	I	11	6	6	15	S
M28	6	R	6	6	I	6	6	6	17	S
M29	26	S	27	23	S	28	25	S	17	S
M30	6	R	11	6	I	6	6	6	16	S
M31	6	R	11	6	I	8	6	6	17	S
M32	25	S	21	19	S	29	21	S	17	S
M33	13	R	6	6	I	11	6	6	15	S
M34	6	R	16	6	I	16	10	8	16	S
M35	24	S	21	17	S	30	22	6	16	S
M36	12	R	11	6	I	10	6	6	16	S
M37	6	R	6	6	I	7	6	6	12	R
M38	6	R	10	6	I	6	6	12	16	S
M39	12	R	11	6	I	8	6	6	16	S
M40	25	S	29	25	S	30	24	S	8	R
M41	28	S	6	6	I	30	6	6	10	R
M42	6	R	10	6	I	6	6	10	17	S
M43	6	R	6	6	I	6	6	6	15	S
M44	6	R	6	6	I	6	6	6	6	R
M45	6	R	6	6	I	6	6	6	17	S