



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS – LICENCIATURA EN QUÍMICO
FARMACOBIOLOGO
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA
DETECCIÓN FENOTÍPICA DE MARCADORES DE RESISTENCIA EN CEPAS DE
Klebsiella spp. RECUPERADAS DE MUESTRAS CLÍNICAS
TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE LICENCIATURA EN QUÍMICO
FARMACOBIOLOGO
PRESENTA:
PEDRO SÁNCHEZ GUERRERO
DIRECTORA DE TESIS:
M. C. ZITA GUTIÉRREZ CAZÁREZ
ASESOR INTERNO:
D. C. ALMA LOPEZ GARCIA

MAYO DEL 2024

AGRADECIMIENTOS

A mis padres. Elena Guerrero y Pedro Sanchez. Por su amor, apoyo incondicional y por creer en mí incluso cuando yo no lo hacía.

A mis hermanas. Analy y Aurora, por nunca dejarme solo.

M.C. Zita Gutiérrez Cazarez. Su apoyo y consejos fue clave para culminar este trabajo.

Gracias por sembrar en mi la semilla que me llevo a realizar este trabajo.

D. C. Alma López García. Por su apoyo fundamental que hizo posible este logro.

A mi eterna amiga. Jaqueline. Gracias, por tanto.

Sanchez Guerrero Pedro

ÍNDICE

1. MARCO TEÓRICO	5
1.1. Características generales de <i>Klebsiella</i>	5
1.2. Taxonomía	5
1.3. Epidemiología e importancia clínica	6
1.4. Clasificación de antibióticos	6
1.4.1. β-lactámicos	7
1.4.2. Quinolonas	10
1.4.3. Aminoglucósidos	10
1.5. Resistencia antimicrobiana e infecciones asociadas a la atención a la salud	11
1.6. Mecanismos de resistencia a antibióticos	13
1.6.1. β-lactamasas	14
1.6.2. β-lactamasas de espectro extendido	15
1.6.2.1. Enzimas tipo CTX-M	16
1.6.3. β-lactamasas tipo carbapenemasas	16
1.6.4. Resistencia a quinolonas	17
1.6.5. Resistencia a aminoglucósidos	17
1.7. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana	18
2. MARCO DE REFERENCIA	19
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	21
4. JUSTIFICACIÓN	22
5. OBJETIVOS	23
5.1. Objetivo general	23
5.2. Objetivos específicos	23
6. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	24
6.1. Tipo de estudio	24
6.2. Universo del estudio	24
6.3. Tamaño de la muestra	25
6.4. Sede y lugar de estudio	25
6.5. Criterios de selección	25
6.5.1. Criterios de inclusión	25
6.5.2. Criterios de exclusión	25
6.6. Recursos humanos	26

6.7.	Recursos financieros	26
6.8.	Diseño estadístico.....	26
7.	MATERIAL Y METODOS.....	26
7.1.	Material.....	26
7.2.	Material biológico.....	27
7.4.	Obtención de muestras.....	28
7.5.	Verificación de viabilidad de cepas de <i>Klebsiella</i> spp.....	29
7.6.	Determinación del perfil de resistencia por el método de Kirby-Bauer	29
7.7.	Determinación de BLEE por el método de sinergia de doble disco	31
7.8.	Determinación de AmpC por el método de aproximación de disco.....	33
7.9.	Determinación de carbapenemasas por el método de inactivación del carbapenémico.....	34
8.	RESULTADOS.....	36
9.	DISCUSIÓN.....	49
10.	CONCLUSIONES	52
11.	PERSPECTIVA	53
12.	ANEXOS.....	55
13.	BIBLIOGRAFÍA	59

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Características generales de *Klebsiella*

Klebsiella pertenece al orden de los Enterobacterales, es una bacteria inmóvil, fermentadora de lactosa, oxidasa negativa y catalasa positiva, con observación al microscopio de bacilo gramnegativo, además, posee una cápsula prominente que le proporciona patogenicidad. Esta bacteria está ampliamente distribuida y puede localizarse en la naturaleza, entornos hospitalarios y en biopelículas adheridas a dispositivos médicos (Li *et al*, 2014).

Los requerimientos de cultivo de *Klebsiella* spp. no son exigentes, puesto que este género puede crecer en cultivos sencillos como lo son agar MacConkey y desarrollarse de manera óptima en un rango de 25°C a 37°C dependiendo de la especie, además, crecerá tanto en medio aerobio como anaerobio, por otra parte, *Klebsiella* spp. puede utilizar glucosa y citrato como fuente de carbono, es capaz de fermentar lactosa y manitol, no degrada el triptófano y no posee ornitina descarboxilasa por lo tanto es indol y ornitina negativa con algunas excepciones dependiendo de la especie (Alves *et al*, 2006).

1.2. Taxonomía

El género *Klebsiella* fue nombrado por Trevizan (1885) en honor al microbiólogo alemán Edwin Klebs, *Klebsiella* tiene una taxonomía muy compleja, por lo cual esta se encuentra constantemente en cambio, actualmente *Klebsiella* comprende una amplia diversidad de especies como lo son *K. indica*, *K. terrigen*, *K. spalanzanii*, *K. huaxiensis*, *K. oxytoca*, *K. grimontii*, *K. pasteurii* y *K. michiganensis* y el complejo de especies de *K. pneumoniae*, este complejo no tiene una clasificación taxonómica formal y comúnmente se refiere a especies con un parecido genético del 95% al 96% con *K. pneumoniae*, aquí se encuentran siete filogrupos (*K. pneumoniae*, *K. quasipneumoniae subsp. quasipneumoniae*,

K. variicola subsp. variicola, *K. quasipneumoniae subsp. similipneumoniae*, *K. variicola subsp. tropica*, *K. quasivariicola* y *K. africana*) (Arenas *et al* 2009; Dong *et al*, 2022).

1.3. Epidemiología e importancia clínica

Klebsiella en el medio ambiente puede encontrarse en aguas superficiales, aguas residuales, suelos y plantas, por otro lado, también puede hallarse en diversos mamíferos como humanos, caballos o cerdos, donde coloniza las mucosas de éstos (Podschun y Ullmann, 1998); En humanos los principales sitios colonizados son la nasofaringe y el tracto intestinal, también puede encontrarse en la piel, pero en este sitio se considera como parte de la microbiota transitoria. La proporción en que se encuentra como hospedero varía de manera considerable de un estudio a otro dependiendo de la zona geográfica (Calfee, 2017).

Dentro de las especies de *Klebsiella* existen algunas que son de mayor importancia clínica por el número y tipo de infecciones en las cuales están implicadas, como lo son *K. pneumoniae* o *K. oxytoca* causantes de infecciones de vías respiratorias como la neumonía, infecciones del tracto urinario, heridas quirúrgicas o tejidos blandos y septicemia; *Klebsiella* es una causa relativamente infrecuente de infecciones adquiridas en la comunidad, no obstante es una causa frecuente de infecciones en hospitales, debido a que en estos sitios se encuentran individuos con factores de riesgo, neonatos inmunocomprometidos, personas con enfermedades debilitantes o crónico degenerativas, como lo son insuficiencia renal y diabetes mellitus (Echeverri *et al*, 2010; Dong *et al*, 2022).

1.4. Clasificación de antibióticos

Se define en términos estrictos como antibiótico a cualquier sustancia producida por un microorganismo que tenga la capacidad de afectar a otro microorganismo, aunque en la actualidad también se utiliza para definir a sustancias sintéticas o semisintéticas que a bajas concentraciones puede inhibir el crecimiento de un microorganismo. Existen diversas formas de clasificar los antibióticos, la más utilizada, es aquella basada en la estructura del antimicrobiano y su acción farmacológica, en esta división se incluyen β -lactámicos,

macrólidos, tetraciclinas, quinolonas, aminoglucósidos, sulfonamidas, glicopéptidos y oxacilinas (Navarro *et al*, 2011).

1.4.1. β -lactámicos

Los β -lactámicos son una familia de antibióticos ampliamente utilizados debido a su baja toxicidad cuando no se es alérgico a ellos y gran capacidad antibacteriana; El mecanismo de acción de estos antibióticos se basa en la unión irreversible a las proteínas de unión a la penicilina, proteínas necesarias para realizar la transpeptidación de la pared celular y mantener su integridad, los β -lactámicos con esta acción, hacen que la pared celular pierda su estabilidad causando la lisis (Suarez, 2019). Estos antibióticos comparten una estructura entre sí llamada anillo β -lactámico, este es un anillo heterocíclico formado por el ciclo de una amida, a su vez, la presencia o ausencia de un anillo secundario en su estructura les confiere sus propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas además de que les da una gran diversidad, pudiendo clasificarlos en cinco grupos importantes (Bush y Bradford, 2016).

1.4.1.1. Penicilinas

Las penicilinas tienen un anillo β -lactámico y un anillo de tiazolidina, formando su estructura central bicíclica llamada ácido 6-aminopenicilánico, además tienen una cadena lateral en la posición 6 del anillo β -lactámico, que varía dependiendo de cada penicilina y definiendo su actividad, esto permite que se puedan clasificar de acuerdo con su espectro de actividad antimicrobiana (Brunton *et al*, 2017; Balsalobre *et al*, 2019):

- Penicilinas naturales: Aquí se encuentran la penicilina G y la penicilina V, estas son más efectivas contra organismos grampositivos y son susceptibles a la hidrólisis por penicilinasas.
- Penicilinas resistentes a la penicilinasas: Estos compuestos contienen una cadena lateral de isoxazolilo en la posición 6 del anillo β -lactámico protegiéndolo de la hidrólisis de penicilinasas, sin embargo, los antibióticos encontrados en esta categoría

(cloxacilina, oxacilina y meticilina) presentan menos actividad contra microorganismos sensibles a penicilina G y nula actividad contra enterococos.

- Aminopenicilinas: La ampicilina y la amoxicilina se desarrollaron agregando un grupo amino a la bencilpenicilina ampliando su espectro antimicrobiano a organismos gramnegativo como *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* y *Salmonella* spp. Sin embargo, su actividad en organismos grampositivo permaneció similar.
- Penicilinas antipseudomonas: Estos antibióticos fueron creados para aumentar el espectro antimicrobiano contra bacterias gramnegativas, específicamente con *Pseudomona aeruginosa*.

1.4.1.2. Cefalosporinas

Las cefalosporinas son derivados del hongo *Acremonium chrysogenum*, tienen como estructura central el ácido 7-aminocefalosporánico, el cual se genera de la unión del anillo β -lactámico y un anillo dihidrotiazínico, también poseen 2 sustituyentes laterales que dan identidad a cada fármaco perteneciente a esta familia, además de definir sus propiedades antibacterianas y farmacocinética (Balsalobre *et al*, 2019).

Las cefalosporinas han mostrado que son más resistentes que las penicilinas a la hidrólisis provocada por las β -lactamasas, por lo cual, tienen un espectro antimicrobiano más amplio; estos fármacos a su vez se clasifican en 5 generaciones por su actividad antimicrobiana (Brunton *et al*, 2017).

- Cefalosporinas de primera generación: Aquí se incluyen la cefalotina, cefazolina, cefradina y cefadroxilo, estos antibióticos tienen en general buena actividad contra bacterias grampositivas (exceptuando enterococos y *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) y actividad moderada contra organismos gramnegativos. Las bacterias anaerobias de la cavidad bucal suelen ser sensibles. Ninguno de estos fármacos penetra en sistema nervioso central y no son medicamentos de primera elección para ninguna infección.

- Cefalosporinas de segunda generación: Se encuentran dentro de este grupo cefamadol y cefuroxima, presentan actividad contra organismos cubiertos por cefalosporinas de primera generación, agregando actividad contra bacilos gramnegativos exceptuando *P. aeruginosa*. Existe un subconjunto de cefamicinas como la cefoxitina y cefotetan en esta división, que, si bien no son cefalosporinas, se incluyen aquí por su utilidad clínica.
- Cefalosporinas de tercera generación: presentan menor actividad que los fármacos de primera generación contra los cocos grampositivos, aunque la ceftriaxona y la cefotaxima tienen actividad antiestreptocócica. Estos fármacos son muy efectivos contra la familia *Enterobacteriaceae*, aunque debido a la creciente producción de β -lactamasas su funcionalidad ha disminuido.
- Cefalosporinas de cuarta generación: La cefpiroma y la cefepime, tienen un mayor espectro antimicrobiano que las cefalosporinas de tercera generación teniendo actividad en *P. aeruginosa*, además, tienen actividad en especies productoras de β -lactamasas AmpC, sin embargo, tienen actividad nula en anaerobios.
- Cefalosporinas de quinta generación: La ceftarolina es la única cefalosporina disponible en esta división, es capaz de unirse a las proteínas de unión a penicilina (PBP) alteradas que se encuentran en MRSA y *S. pneumoniae* resistente a penicilina

1.4.1.3. Monobactámicos

El aztreonam es el único β -lactámico disponible en esta división, este fármaco es monocíclico y tiene actividad en bacilos gramnegativos, sin embargo, no tienen actividad frente a bacterias grampositivas o anaerobios (Balsalobre *et al*, 2019).

1.4.1.4. Carbapenémicos

Los carbapenémicos tienen un carbono en lugar del átomo de azufre en la estructura bicíclica del anillo β -lactámico y también poseen una cadena lateral de hidroxietil la cual le brinda protección contra la mayoría de las β -lactamasas. Estos fármacos poseen el espectro más grande de actividad y resistencia a las β -lactamasas, son eficientes tanto en bacterias grampositivas como en bacterias gramnegativas, aunque con una notable inactividad en

estafilococos y algunos bacilos no fermentadores, algunos ejemplos de carbapenémicos comercializados son doripenem, ertapenem, imipenem y meropenem (Balsalobre *et al*, 2019).

1.4.1.5.β-lactámicos combinados con inhibidores de β-lactamasas

Los inhibidores de β-lactamasas fueron introducidos a partir de 1970 y se utilizan en combinación de un β-lactámico para aumentar su actividad. Estos compuestos se pueden clasificar en 2 (Balsalobre *et al*, 2019):

- Inhibidores β-lactámicos: Acido clavulánico, tazobactam y sulbactam.
- Inhibidores no β-lactámicos: Avibactam.

1.4.2. Quinolonas

Las quinolonas tienen una estructura formada por dos anillos con un nitrógeno en la posición uno, un grupo carbonilo en la posición 4 y un grupo carboxilo en la posición 3, de esta estructura básica, se derivan todas las demás quinolonas agregando diversos sustituyentes en diferentes posiciones del anillo, todas ellas tienen como mecanismo de acción inhibir la síntesis del ADN al bloquear la enzima ADN girasa. Así como las cefalosporinas las quinolonas se pueden clasificar por su espectro de acción en cuatro generaciones (Alós, 2009; Cué *et al*, 2005).

- Primera generación: Ácido nalidíxico y ácido oxolónico.
- Segunda generación: Norfloxacin, ciprofloxacino y ofloxacino.
- Tercera generación: Levofloxacino.
- Cuarta generación: Moxifloxacino.

1.4.3. Aminoglucósidos

Los aminoglucósidos (gentamicina, tobramicina, amikacina, netilmicina, kanamicina, estreptomycin y neomicina) son productos naturales o derivados semisintéticos producidos por una variedad de actinomicetos del suelo, el uso de estos fármacos ha ido en decadencia debido a que otras familias de fármacos como las cefalosporinas, carbapenémicos y fluoroquinolonas se perciben como menos tóxicos además de tener un espectro antimicrobiano más amplio, sin embargo, son utilizados para tratar infecciones causadas por bacterias aerobias gramnegativas; los aminoglucósidos son especialmente útiles contra los miembros de la familia Enterobacteriaceae, incluidos *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* y *E. aerogenes* además de bacterias de otras familias como *Providencia* spp., *Proteus* spp., *Morganella* spp. y *Serratia* spp. (Brunton *et al*, 2017; Krause *et al*, 2016).

1.5. Resistencia antimicrobiana e infecciones asociadas a la atención a la salud

El primer antibiótico, la penicilina, fue descubierto por Alexander Fleming en 1928, sin embargo, el primer registro que se tiene de resistencia antimicrobiana fue reportada en 1940, en general, la resistencia a los antibióticos sucedió rápidamente después de su uso clínico o industrial. Debido a este efecto de resistencia bacteriana, infecciones que eran tratadas fácilmente con antibióticos, ahora se han vuelto especialmente peligrosas (Spagnolo *et al*, 2021).

Cada año se estima que cerca de 700,000 personas fallecen debido a infecciones en las que están presentes bacterias resistentes a los antibióticos. Las infecciones respiratorias, las septicemias y las infecciones intraabdominales son las más comunes en estos casos. Además, se proyecta que, si esta tendencia continúa en aumento, para el año 2050 podría provocar la muerte de 10 millones de personas (Anónimo, 2022; Murray, 2022). Por otra parte, además de poner en peligro la salud de los seres humanos, genera grandes gastos económicos, ya que un país requiere aproximadamente una inversión de 2 a 3.5% de su producto interno bruto para cubrir los gastos médicos ocasionados por este problema (The World Bank, 2017).

Las IASS también llamadas enfermedades nosocomiales o intrahospitalarias, son definidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como aquellas infecciones que

afectan a un paciente durante el proceso de asistencia en un hospital u otro centro sanitario, que no estaban presentes ni incubadas en el momento de su ingreso. Incluye también las infecciones que se contraen en el hospital, pero se manifiestan después del alta, así como las infecciones ocupacionales del personal del centro sanitario. Las IAAS son causadas en su mayoría por bacterias multirresistentes a antibióticos, causando incapacidad, prolongación de la estancia en hospitales, incremento de la probabilidad de morir y muerte prematura (Murray, 2022).

La limitación existente en el uso de antibióticos para tratar enfermedades, debido a el constante desarrollo de mecanismos de defensa de las bacterias, hace que se genere un problema importante para la salud pública, agravando problemas como las “Infecciones asociadas a la atención de la salud” (IAAS) (Giono *et al*, 2021).

Un estudio realizado por la Red Nacional de Seguridad en la Atención Médica de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades identificó a *K. Pneumoniae* como el tercer patógeno más común causante de Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud (IAAS), después de *E. coli* y *S. aureus*. En otro estudio sobre las bacterias responsables de muertes por resistencia a los antibióticos, estas mismas bacterias ocupaban los mismos puestos en la clasificación (Figura 1) (Murray, 2022; Weiner et al, 2016).

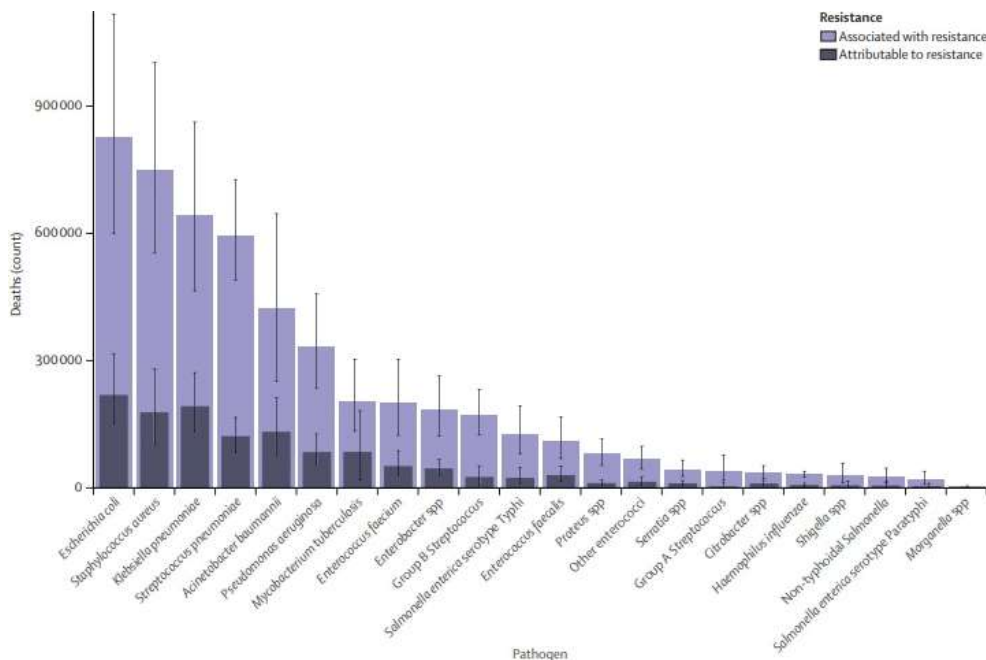


Figura 1: Muertes globales atribuibles y asociadas con la resistencia bacteriana a los antimicrobianos por patógenos en 2019. Tomado de: Murray *et al*, 2022

1.6. Mecanismos de resistencia a antibióticos

Las bacterias son capaces de contrarrestar los efectos de los antibióticos que existen en la actualidad por diversos mecanismos, los cuales pueden funcionar de manera individual o combinada para mejorar su eficacia, cuando estos mecanismos inactivan la acción terapéutica de la concentración clínica de los antibióticos, se vuelven un problema (Galani *et al*, 2021).

Dentro de los mecanismos de resistencia importantes se pueden mencionar (Moreno *et al*, 2009):

- La modificación del sitio activo donde se cambia la estructura conformacional de un aminoácido y disminuye o se pierde la afinidad por el antimicrobiano.
- La producción de bombas de flujo, mecanismo donde se expulsa el fármaco hacia el exterior de la célula sin modificaciones, incapacitando su llegada al sitio de acción.

- Disminución de la permeabilidad.
- Aumento del diámetro o el número de porinas para bloquear el ingreso del antibiótico a la célula.
- Producción de enzimas

Sin embargo, el mecanismo de resistencia más importante en *Klebsiella* es la ya mencionada producción de enzimas, mecanismo por el cual se altera la estructura química de los antibióticos, imposibilitando su actividad terapéutica.

El género *Klebsiella*, además, tiene genes de resistencia antibacteriana, que pueden estar codificados en cromosoma o en plásmidos, con la posibilidad de propagarse a otras bacterias (Bush *et al*, 2010).

1.6.1. β -lactamasas

Las β -lactamasas son enzimas que juegan un papel crucial en la resistencia bacteriana a los antibióticos β -lactámicos, Estas enzimas degradan el anillo β -lactámico en estos antibióticos, lo que inhibe su actividad y permite que las bacterias resistan sus efectos antimicrobianos (Shaikh, 2015).

Estas enzimas son clasificadas a través del sistema de Ambler, el cual es un sistema utilizado para categorizar las β -lactamasas en diferentes grupos, considerando su interacción enzima sustrato y sus secuencias de aminoácidos, existen 4 clases:

Las enzimas clases A, C y D son serin-enzima, caracterizadas por la presencia obligada de una serina en el sitio activo, que media su función.

Las enzimas de clase B son metalo- β -lactamasas, poseen una o dos moléculas de zinc asociados al sitio activo, estas enzimas actúan sobre todos los β -lactámicos exceptuando los monobactámicos, Aquí podemos destacar a las enzimas:

- VIM y KPC: constituyen los subgrupos más grandes de carbapenemasas, se ha hallado la presencia simultanea de VIM y KPC codificada en plásmidos diferentes en *K. pneumoniae* lo que limita aún más las opciones terapéuticas.
- NDM: confieren una amplia resistencia a los antibióticos generando graves problemas terapéuticos, las cepas portadoras de las enzimas NDM son resistentes a los carbapenémicos y a todos los antibióticos probados a excepción de la colistina (Navarro *et al*, 2011; Rada *et al*, 2019).

En el año 1995 surgió otra clasificación realizada por Bush-Jacoby, esta clasificación considera aspectos como los pesos moleculares, puntos isoeléctricos, perfiles de sustrato y capacidad de ser inhibidas por sustancias como el ácido clavulánico, tazobactam o EDTA. La clasificación de Bush y Jacoby como la de Ambler están correlacionadas (Salazar, 2018).

1.6.2. β -lactamasas de espectro extendido

Las BLEE fueron descritas por primera vez en el año de 1983, estas se encuentran en la clase molecular A de Ambler y el grupo 2 según la clasificación de Bush-Jacoby (Bush *et al*, 2010). Las BLEE son capaces de generar resistencia a la mayoría de los β -lactámicos mediante un mecanismo de acción enfocado en la hidrólisis del enlace tipo amida del anillo β -lactámico que poseen antibióticos como las penicilinas, cefalosporinas y monobactámicos, sin embargo, su acción en la cefamicina y carbapenémicos es nula (Morejón, 2013; Urquiza *et al*, 2018).

Las BLEE más comunes en *Klebsiella* son las de tipo sulfhídrido variable (SHV), Temoneira (TEM), las tipo cefotaxima (CTX-M) y las tipo oxacilina (OXA); las enzimas SHV (derivadas de la sustitución de aminoácidos del grupo de penicilinasas) junto con las de tipo TEM (derivadas de los grupos TEM-1 y TEM-2) son codificadas en plásmidos e inhibidas por el ácido clavulánico y el tazobactam; las enzimas CTX-M son un tipo de enzimas que hidrolizan la cefotaxima y la ceftriaxona con mayor eficacia que a la ceftazidima, además de hidrolizar la cefepime tienen como característica una mayor

sensibilidad a la inhibición por tazobactam que con el ácido clavulánico (Paterson *et al*, 2003; Rada *et al*, 2019).

Las enzimas de tipo OXA a pesar de estar más ampliamente relacionadas con las carbapenemasas, algunas de ellas se consideran BLEE, como OXA-13, OXA-14 y OXA 15. En un inicio se creían exclusivas del género *Acinetobacter*, sin embargo, enzimas como la OXA-48 se han extendido ampliamente en la familia *Enterobacteriaceae*, especialmente en miembros de esta, como *K. pneumoniae*, agravando el problema de resistencia bacteriana (Evans *et al*, 2014).

1.6.2.1. Enzimas tipo CTX-M

Las enzimas CTX-M son un grupo heterogéneo de BLEE que posee la mayor capacidad de diseminación y prevalencia en todo el mundo respecto a otras familias de BLEE, comprenden aproximadamente 200 enzimas; las diferentes secuencias de aminoácidos de las diversas variantes de enzimas CTX-M han permitido clasificarlas en por lo menos 5 grupos CTXM-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 y CTX-M-25 (Mendonça, 2022). Las enzimas CTX-M no fueron relevantes sobre las demás BLEE hasta la primera década de los 2000, cuando se observó una evolución acelerada y una dispersión singularmente amplia de las mismas, se sugiere que este cambio precipitado ocurrió debido al desplazamiento de genes *bla* cromosómicos de *Kluyvera* spp. cuando se incorporaron a elementos genéticos móviles y posteriormente a través de mutaciones puntuales las enzimas CTX-M mejoraron su actividad hidrolítica contra la ceftazidima, además de generar nuevas variantes (Cantón *et al*, 2012).

1.6.3. β -lactamasas tipo carbapenemasas

Las carbapenemasas pertenecen al grupo A, B y D en la clasificación de Ambler y a son el grupo de BLEE más versátiles, teniendo la capacidad de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas, monobactamicos y carbapenémico,

Estas enzimas son codificadas en los plásmidos o cromosoma bacteriano, donde podemos hallar las enzimas *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa (KPC) KPC-2 y KPC-3, algunas enzimas guiana de espectro extendido (GES), como lo son la GES-2, GES-5 y GES-11, metalo-betalactamasas Verona codificadas por integrón (VIM), y Nueva Delhi metalo-betalactamasas (NDM), enzimas imipenemasas (IMP), enzimas *Serratia marcescens* (SME) SME-1 y SME-4, β -lactamasas de Alemania (GIM) y la mayoría de las enzimas tipo OXA como lo son OXA-48 y OXA-23 . (Buendía *et al*, 2020).

1.6.4. Resistencia a quinolonas

La resistencia a quinolonas en enterobacterias se genera a través de diversos mecanismos (Geetha *et al*, 2020):

- La resistencia cromosómica se genera por mutación en la región QRDRs (del inglés “quinolone resistance-determining regions”) en los genes de la DNA girasa (*gyrA* y *gyrB*) y los genes de la topoisomerasa IV (*parC* y *parE*).
- La resistencia mediada por plásmidos es mediada por los genes *qnr* que codifican a las proteínas Qnr que protegen las enzimas que codifican la ADN girasa y la topoisomerasa.
- Acetilación de las quinolonas por la aminoglucósido transferasa producida por el *gen acc(6')-Ib-cr*.
- Sobre expresión de bombas de eflujo QepA y OqxAB o las alteraciones de porinas.

1.6.5. Resistencia a aminoglucósidos

Los principales mecanismos de resistencia a aminoglucósidos son realizados a través de la inactivación enzimática por medio de 3 enzimas:

- Acetiltransferasa, encargada de acetilar un grupo amino del antibiótico.
- Fosfotransferasa que fosforila un grupo hidroxilo.

- Nucleotidiltransferasa responsable de adenilar un grupo hidroxilo.

Otro mecanismo es la disminución de sensibilidad a los aminoglucósidos mediante mutaciones de membrana, porinas y estructuras de los polisacáridos (Navarro *et al*, 2011; Mella *et al*, 2004).

1.7. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana

Las pruebas de sensibilidad antimicrobiana se realizan con el objetivo de evaluar *in vitro* la susceptibilidad de un agente patógeno a uno o más antibióticos. Estas pruebas permiten determinar la eficacia de los antibióticos en el tratamiento de infecciones, aunque es importante tener en cuenta que no consideran factores como la farmacodinamia, la farmacocinética o la concentración del medicamento en el sitio de acción. A pesar de estas limitaciones, realizar pruebas de sensibilidad antimicrobiana aumenta la probabilidad de tratar con éxito las infecciones y contribuye a prevenir el desarrollo de resistencia antimicrobiana.

Para realizar estas pruebas se cuenta con la técnica de Kirby-Bauer, también conocida como difusión en agar. Esta es una técnica cualitativa que consiste en colocar un inóculo bacteriano con 1.5×10^8 UFC/mL previamente estandarizado a una concentración de 0,5 de McFarland sobre la superficie de una placa de agar Mueller-Hinton, este inóculo debe distribuirse de manera uniforme por toda la superficie del medio de cultivo en 3 direcciones diferentes, girando la placa Petri 45 grados en cada estría. Por último, los sensidiscos con los antibióticos deseados deben colocarse en un plazo no mayor a 15 minutos. Luego las placas deben colocarse a una temperatura adecuada para el microorganismo estudiado por un tiempo máximo de 16 a 18 horas, después, se observan y se miden los halos de inhibición; por último, se realiza la interpretación en bases a las guías del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI por sus siglas en inglés) con posibles resultados sensible, intermedio o resistente. Esta técnica tiene diversas ventajas respecto a otros métodos ya que es fácil de efectuar puesto que no requiere equipo especial, es reproducible, sus resultados son fácilmente interpretables y tiene flexibilidad en tanto a los antibióticos a utilizar (CLSI, 2023).

2. MARCO DE REFERENCIA

En 2011 Navarro y colaboradores realizaron un estudio en hospitales de Sonora donde analizaron 1,412 muestras del año 2008 al 2009, de las cuales, 228 aislados se identificaron como *K. pneumoniae*, a su vez, el 35.3% mostraron ser productoras de BLEE, como resultado de esta investigación se concluyó que cepas de *K. pneumoniae* productoras de BLEE son causantes de diversas infecciones hospitalarias y comunitarias, a su vez, estas son regularmente sensibles a los carbapenémicos. La vigilancia constante de la prevalencia de

microorganismos productores de BLEE en los hospitales contribuye a conocer la dimensión del problema y a definir estrategias para su control (Navarro *et al*, 2011).

En 2018 Ponce y colaboradores analizaron 3,958 bacilos gramnegativos aislados en México del año 2009 al 2015 de infecciones intraabdominales e infecciones del tracto urinario, los aislados se enviaron a un laboratorio central de microbiología, para una mayor confirmación de la especie y pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos, de los aislados 483 aislamientos fueron identificados como *K. pneumoniae*, y 70 como *K. oxytoca*, a su vez, estos microorganismos se encontraron como aquellos con mayor tasa de producción de BLEE 39% y 20% respectivamente. Los resultados obtenidos en el periodo de vigilancia confirman que tanto *E. coli* y *K. pneumoniae* son los organismos productores de BLEE reportados con mayor frecuencia en México, con base a los resultados obtenidos los investigadores destacan la importante de la necesidad de desarrollar opciones de tratamiento eficaces, tanto para el descubrimiento de nuevos fármacos como para nuevas combinaciones de antimicrobianos ya existentes, así como para garantizar la prevención de infecciones resistentes a los antimicrobianos (Ponce *et al*, 2018).

En un estudio realizado por Medina y colaboradores en México, a partir de 214 urocultivos positivos de muestras recolectadas del año 2017 al 2019 de pacientes atendidos en el área de urgencias y medicina interna de un hospital de Chihuahua, se encontró, que los microorganismos aislados con mayor frecuencia fueron bacterias gramnegativas, en donde *E. coli*, *Staphylococcus* spp., *Klebsiella* spp. y *Pseudomonas* spp. ocuparon los primeros puestos. Las cepas de *Klebsiella* aisladas mostraron un 100 % de resistencia a ampicilina, mientras que a antibióticos como la ampicilina con sulbactam mantuvieron una resistencia entre 40 y 60%. Las cefalosporinas cefuroxima, cefotaxima y amoxicilina con ácido clavulánico obtuvieron resistencia de entre el 20 y 30%, mientras que cefalosporinas de tercera y cuarta generación cefepime, ceftazidima y ceftriaxona, mantuvieron una resistencia menor al 20%. En los resultados obtenidos se destacó que en infecciones urinarias las bacterias gramnegativas son los patógenos más comúnmente aislados, de los que las enterobacterias son los patógenos más comunes, por lo tanto los tratamientos tiene que ser enfocados hacia los microorganismos implicados más comunes como *Klebsiella*, a su vez, se indica que el tratamiento debe de realizarse con los antibióticos que presentan una menor

resistencia, evitando por lo tanto antibióticos como quinolonas y cefalosporinas de segunda y tercera generación, administrando solo a pacientes intrahospitalarios o con antibiogramas que demuestren sensibilidad (Medina, 2021).

En 2020, Gallegos y colaboradores estudiaron las características fenotípicas y moleculares de 1785 aislados clínicos de enterobacterias de 4 Hospitales en México recolectados de febrero a agosto del 2016. Se encontraron como productores de BLEE a 207 bacterias, donde 9 de ellas fueron *K. pneumoniae*. Las principales familias de BLEE detectadas en esta especie corresponde al tipo SHV hallada en 8 cepas, el tipo CTX-M-1 el tipo TEM se halló en 7 cepas y el grupo CTX-M-9 hallada en solo 1 de las 9 cepas. El estudio realizado reflejo resultado similares a otros realizados en México y mostro que la variante CTX-M-15 es la variante principal de BLEE en cepas de *K. pneumoniae* (Gallegos *et al*, 2020).

En 2013 Woerther y colaboradores informaron en un estudio realizado que la prevalencia de la resistencia bacteriana no solo ha aumentado en pacientes hospitalizados, si no que existe la colonización intestinal de personas sanas por enterobacterias productoras de BLEE, principalmente del tipo CTX-M, ha alcanzado niveles de pandemia a nivel mundial en pocos años (Woerther *et al*, 2013).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El uso de antibióticos β -lactámicos de manera inadecuada, así como, el intercambio horizontal de genes entre microorganismos ha aumentado la resistencia microbiana, hasta el punto de que antibióticos que eran considerados de primera elección para el tratamiento de diversas enfermedades, han dejado de funcionar, provocando que se tenga que recurrir al uso de nuevas alternativas farmacológicas como tratamiento. Dentro de los géneros bacterianos con mayor resistencia a los antibióticos β -lactámicos se encuentra *Klebsiella spp*, este género

presenta un espectro de resistencia antimicrobiana amplio, ya que se han aislado cepas resistentes a penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos, quinolonas, etc. Además, *Klebsiella* ha desarrollado mecanismos genéticos de resistencia transferibles, aumentan la gravedad de la enfermedad y disminuye las alternativas para el tratamiento terapéutico. Si bien *Klebsiella* siempre ha estado relacionado con infecciones en el ser humano, en la actualidad ha tenido un papel importante como causante de IAAS por lo que se ha convertido en un problema de salud pública. Por estos motivos la OMS considera que la resistencia antimicrobiana, es un problema de escala mundial, donde se genera impacto clínico, social y económico, debido a que aumenta los riesgos de hospitalización, desempeña un papel importante en la tasa de mortalidad y eleva los costos de tratamiento.

Por lo anterior nos planteamos lo siguiente ¿Cuáles son los marcadores de resistencia presentes en las cepas de *Klebsiella* spp. recuperadas de muestras clínicas pertenecientes a la colección del Centro de Capacitación para el Diagnóstico Microbiológico?

4. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, el amplio e injustificado uso de antibióticos para el tratamiento de enfermedades infecciosas, tanto en México, como en el resto del mundo, han causado un aumento en el número de cepas de *Klebsiella* resistentes a los antibióticos, si esta tendencia sigue en aumento, las opciones terapéuticas serán reducidas aún más, produciendo un escenario preocupante. Con la presente investigación se pretende comprender la participación del género *Klebsiella* con la problemática actual de resistencia bacteriana y a su vez se busca beneficiar a la comunidad científica aportando información sobre esta problemática, además de proporcionar una metodología útil para utilizarse en los laboratorios

de microbiología clínica para la detección de marcadores de resistencia en cepas de *Klebsiella* spp. Por último, este proyecto será viable pues se dispone de los recursos de infraestructura, económicos, biológicos, humanos y de información necesarios para llevarse a cabo.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

- Detectar fenotípicamente β -lactamasas de espectro extendido, en cepas de *Klebsiella* spp. recuperadas de muestras clínicas.

5.2. Objetivos específicos

- Determinar el perfil de sensibilidad a los antibióticos en cepas de *Klebsiella* spp. recuperadas de muestras clínicas, por el método de difusión en disco.
- Determinar fenotípicamente las enzimas tipo BLEE en cepas de *Klebsiella* spp. recuperadas de muestras clínicas por el método de sinergia de disco.
- Determinar fenotípicamente las enzimas tipo AmpC en cepas de *Klebsiella* spp. recuperadas de muestras clínicas.
- Determinar fenotípicamente las enzimas tipo carbapenemasas de *Klebsiella* spp. recuperadas de muestras clínicas.

6. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

6.1. Tipo de estudio

- Longitudinal, retrospectivo, observacional, descriptivo.

6.2. Universo del estudio

- Cepas de *Klebsiella* spp. aisladas de pacientes pediátricos infectados del Hospital del Niño Poblano, provenientes de la colección del cepario del Centro de Capacitación para el Diagnóstico Microbiológico Clínico Sanitario y Molecular (CECADIM).

6.3. Tamaño de la muestra

- A conveniencia del estudio, 100 cepas de *Klebsiella* spp.

6.4. Sede y lugar de estudio

- CECADIM

6.5. Criterios de selección

6.5.1. Criterios de inclusión

- Cepas de *Klebsiella* spp.
- Cepas aisladas de pacientes pediátricos.
- Cepas recuperadas de líquido peritoneal, líquido pleural, líquido de diálisis peritoneal, líquido articular, secreciones, abscesos, tejidos, heridas quirúrgicas y exudado vulvar.
- Cepas aisladas en el periodo 2015-2022.

6.5.2. Criterios de exclusión

- Cepas aisladas de pacientes adultos.
- Cepas diferentes a *Klebsiella* spp.
- Cepas recuperadas de muestras clínicas diferentes a líquido peritoneal, líquido pleural, líquido de diálisis peritoneal, líquido de diálisis peritoneal, líquido articular, secreciones, abscesos, tejidos, heridas quirúrgicas y exudado vulvar.

6.6. Recursos humanos

- Tesista Sánchez Guerrero Pedro.
- Asesor externo M. C. Zita Gutiérrez Cásares directora del CECADIM.
- Asesor interno D. C. Alma López García Facultad de Ciencias Químicas BUAP.

6.7. Recursos financieros

- Recursos del CECADIM y del tesista.

6.8. Diseño estadístico

- Estadística descriptiva.

7. MATERIAL Y METODOS

7.1. Material

- Material de vidrio necesario para la preparación de medios de cultivo.
- Medio de cultivo agar Mueller-Hilton.
- Medio de cultivo enriquecido.
- Placas Petri (100 x 15 mm).
- Sensidiscos para pruebas de sensibilidad
 - Ceftazidima (CAZ) 30 µg

- Cefotaxima (CTX) 30 µg
- Aztreonam (AZT) 15µg
- Ceftriaxona (CRO) 30 µg
- Amoxicilina/clavulánico (AMC) 20/10 µg
- Cefuroxima (CXM) 30 µg
- Cefepime (FEP) 75 µg
- Gentamicina (GM) 10 µg
- Amikacina (AK) 30 µg
- Ampicilina/sulbactam (SAM) 10/10 µg
- Trimetoprima/sulfametoxazol (SXT) 1.25/23.75 µg
- Meropenem (MEM) 10 µg
- Ciprofloxacino (CIP) 5 µg
- Imipenem (IMP) 10 µg

7.2. Material biológico

- Cepas de *Klebsiella* spp. de la colección del CECADIM obtenidas de muestras clínicas, previamente analizadas e identificadas con el equipo automatizado Vitek 2 Compact.
- Cepa control *E. coli* ATCC 25922.

7.3. Metodología



Diagrama 1: Esquema general de trabajo

7.4. Obtención de muestras

Se estudiaron 100 cepas de *Klebsiella* spp. de la colección del CECADIM aisladas de pacientes pediátricos infectados del Hospital del Niño Poblano obtenidas de:

- Líquido peritoneal
- Líquido pleural
- Líquido de diálisis peritoneal
- Líquido de diálisis peritoneal
- Secreciones
- Abscesos
- Tejidos
- Heridas quirúrgicas

- Exudados vulvares

7.5. Verificación de viabilidad de cepas de *Klebsiella* spp.

- 1.- Las 100 cepas preservadas en congelación a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ se descongelaron a temperatura ambiente.
- 2.- Se sembró, a través de un inóculo cada cepa en placas con agar enriquecido, con ayuda de un asa estéril, por el método de siembra de estría cruzada.
- 3.- Se incubó a $35 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por un periodo de 24 horas cada caja Petri.
- 4.- Al concluir el tiempo de incubación se procedió a observar la pureza de *Klebsiella* en el medio seleccionado.
- 5.- Una vez confirmadas las cepas puras de *Klebsiella* se realizó una segunda siembra siguiendo los pasos del punto 2 al 3, esto con la finalidad de garantizar la máxima expresión fenotípica de la cepa.

7.6. Determinación del perfil de resistencia por el método de Kirby-Bauer

- 1.- Se tomó un inóculo de los cultivos de 24 horas de las cepas aisladas durante la segunda siembra de la verificación de viabilidad. Este inóculo fue depositado en un tubo conteniendo solución salina al 0.85 % hasta alcanzar una suspensión bacteriana ajustada al estándar de 0.5 en la escala de McFarland.
- 2.- Con la solución obtenida, se impregnó un hisopo estéril, se eliminó el exceso presionándolo ligeramente con las paredes del tubo y se realizó una siembra masiva sobre una placa de agar Mueller-Hinton, haciendo una cruz sobre la placa de agar y estriando completamente la placa tres veces girándola 90 grados cada vez.
- 3.- En un plazo no mayor a 15 minutos después de la inoculación, se procedió a colocar los sensibilizadores seleccionados con la concentración de antibiótico establecida por el CLSI 2023

sobre las placas de agar Mueller Hinton, de tal manera que no existiera una distancia menor a 30 mm entre disco y disco (Figura 2).

4.- Posteriormente se incubaron las placas a 35 °C por 18 horas.

5.- Al concluir el tiempo de incubación, se midieron los halos de inhibición producidos en las placas con un vernier y se extrapolaron con las tablas del CLSI 2023 para determinar el perfil de resistencia de las cepas correspondientes (Diagrama 2).

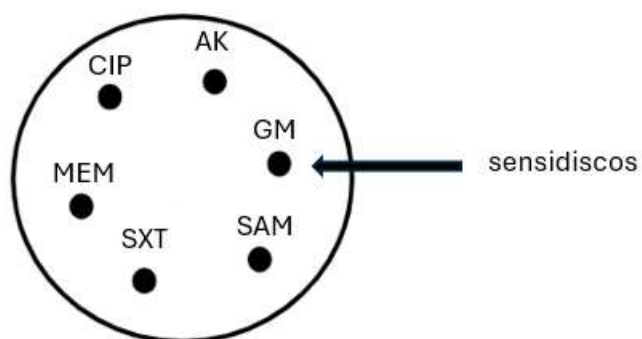


Figura 2: Esquema de colocación de sensidiscos para prueba de Kirby-Bauer

Diagrama 2: Determinación del perfil de resistencia por el método de Kirby-Bauer



7.7. Determinación de BLEE por el método de sinergia de doble disco

- 1.- Se realizó una inoculación de placas de agar Mueller Hinton siguiendo los pasos 1 y 2 del método de Kirby-Bauer.
- 2.-Se colocó en el centro de cada placa un sensidisco de amoxicilina con ácido clavulánico.
- 3.- Posteriormente, alrededor del sensidisco central, se colocaron sensidiscos con diferentes cefalosporinas (cefotaxima, ceftazidima cefepime y aztreonam) a una distancia de 2.0 cm de extremo a extremo de cada disco (Figura 3).
- 4.- Se Incubaron a 35 °C por un periodo de 18 horas cada caja Petri.
- 5.- Al concluir el tiempo de incubación, se verifico la presencia o ausencia de BLEE, se dio un resultado positivo cuando se generó una “cola de pez” o una silueta de “balón de futbol americano” entre el disco inductor y la cefalosporina, un resultado negativo cuando se presentó la ausencia de este elemento (Diagrama 3).

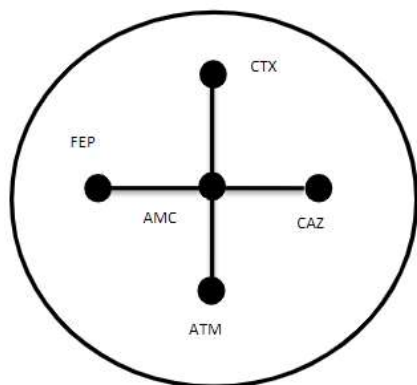
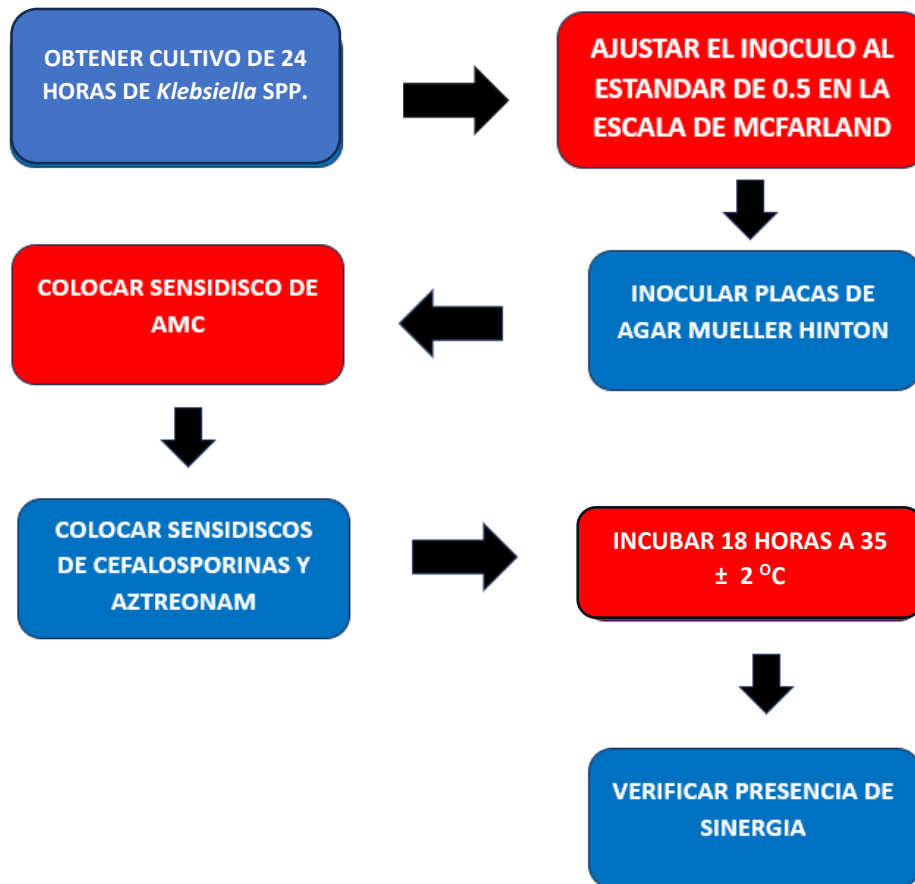


Figura 3: Esquema de colocación de sensidiscos para prueba de doble disco para detección de BLEE (en el centro AMC, los demás antibióticos pueden ser colocados de forma aleatoria alrededor con una separación de 2 cm)

Diagrama 3: Determinación de BLEE por sinergia de doble disco



7.8. Determinación de AmpC por el método de aproximación de disco

- 1.- Se realizó una inoculación de placas de agar Mueller Hinton siguiendo los pasos 1 y 2 del método de Kirby-Bauer.
- 2.- Se colocó en la placa un sensidisco de imipenem.
- 3.- Posteriormente, se colocaron discos de aztreonam y ceftazidima a una distancia de 2.5 mm del Imipenem (Figura 4).
- 4.- Se Incubaron a 35 °C por un periodo de 18 horas cada caja Petri.
- 5.- Al concluir el tiempo de incubación, se verificó la presencia de AmpC al observar un halo de inhibición truncado del aztreonam o de la ceftazidima o su ausencia al no encontrar esta interferencia en los halos de inhibición (Diagrama 4).

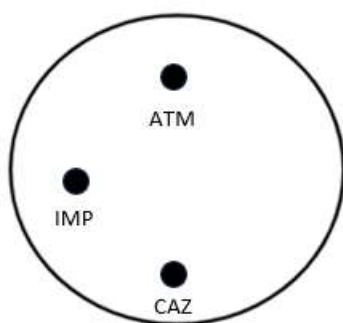
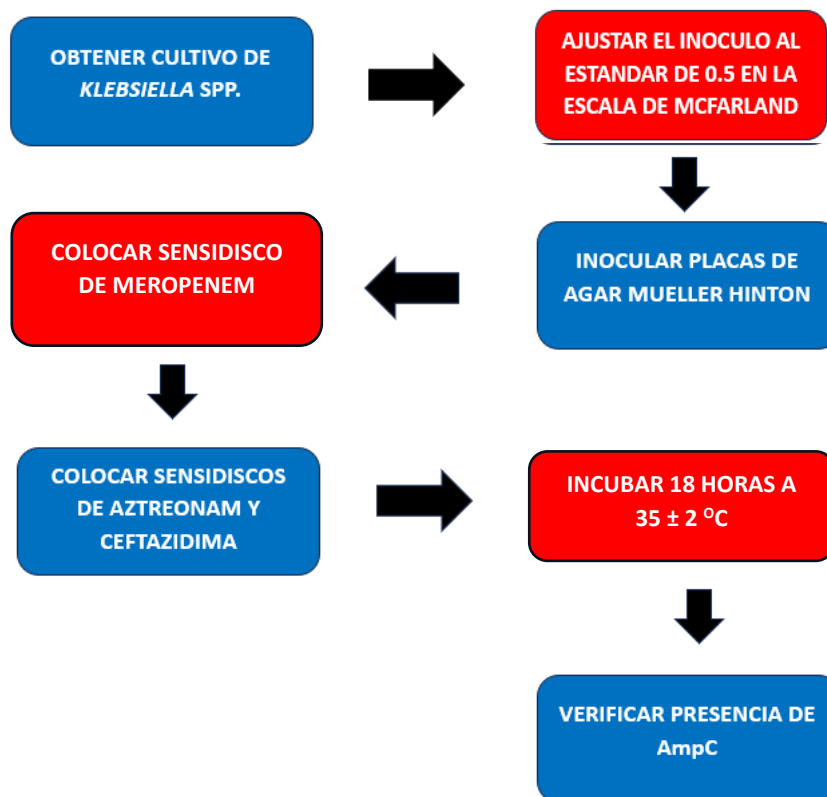


Figura 4: Esquema de colocación de sensidiscos para prueba de aproximación de disco para detección de AmpC (los discos de ATM y CAZ se colocan a una distancia de 2.5 mm del disco de IMP)

Diagrama 4: Determinación de AmpC por método de aproximación de disco



7.9. Determinación de carbapenemasas por el método de inactivación del carbapenémico

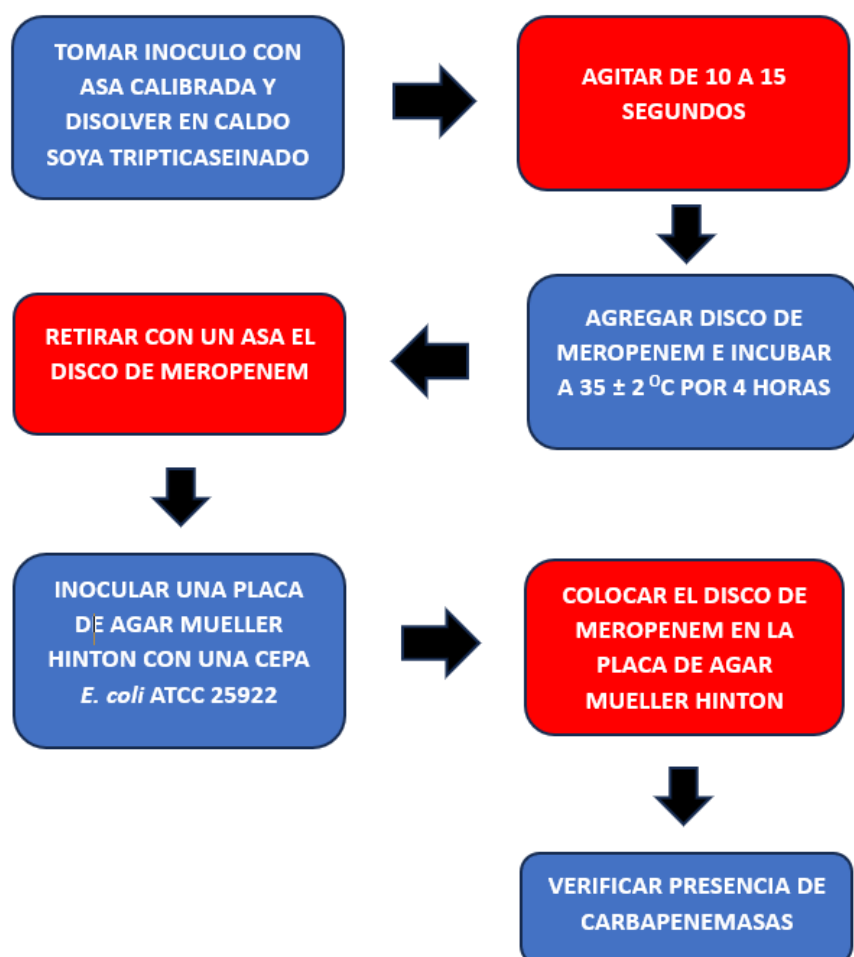
- 1.- Se tomó con un asa calibrada de 1 μ L la cepa en estudio proveniente de un cultivo de 24 horas en un tubo con 2 mL de caldo soya tripticaseina.
- 2.- Se agitó por 10 a 15 segundos.
- 3.- Se agregó un disco 10 μ g de meropenem, y se incubó a 35 ± 2 °C por 4 horas.
- 4.-Se preparó un inóculo en placas de agar Mueller Hinton siguiendo los pasos 1 y 2 del método de Kirby-Bauer con una cepa *E. coli* ATCC 25922.
- 6.- Una vez que se cumplieron las 4 horas (punto 3), se retiró con un asa el disco de meropenem de la cepa en estudio secando el exceso de líquido.

7.- Se colocó el disco en la placa de agar Mueller Hinton sembrada.

8. Se incubó a 35 ± 2 °C toda la noche.

9.- Al concluir el tiempo de incubación, se verificó la presencia de carbapenemasas al observar crecimiento de la cepa ATCC alrededor del meropenem y se descartó la presencia de estas al detectar la presencia de un halo de inhibición en el meropenem (Diagrama 5).

Diagrama 5: Determinación de carbapenemasas por el método de inactivación del carbapenémico



8. RESULTADOS

Se analizaron 100 cepas de *Klebsiella* spp. de la colección del CECADIM, cuya recolección se realizó en el periodo comprendido entre el 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre de 2022. En los análisis estadísticos realizados se encontró que la distribución por sexo de las infecciones causadas por *Klebsiella* spp. fue 58% correspondiente al sexo masculino y el 42% correspondiente al sexo femenino (Figura 3), por otro lado, la edad promedio de los pacientes fue de 4.8 años, mínimo 2 días y máximo 17 años (Figura 5).

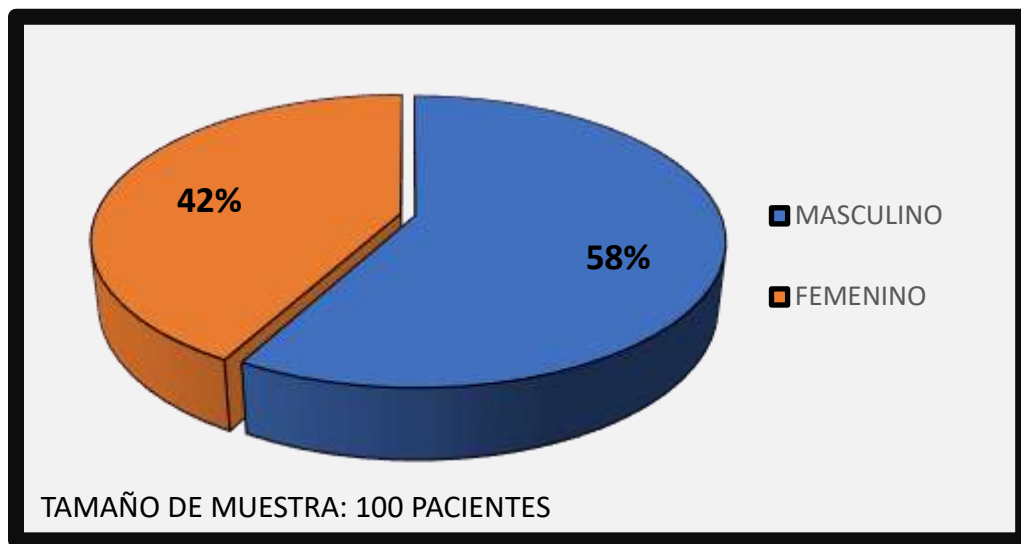


Figura 5: Sexo de los pacientes con infecciones por *Klebsiella* spp. CECADIM 2015-2022

Los pacientes pediátricos fueron divididos en grupos según la NOM 008 los grupos y la distribución son recién nacidos (0 a 28 días) con un 10%, lactantes (1 mes a 1 años) con un 40%, pre-escolares con un 14% (2 a 6 años), escolares (7 a 10 años) con 18% y adolescentes (11 a 18 años) con 18% (Figura 6).

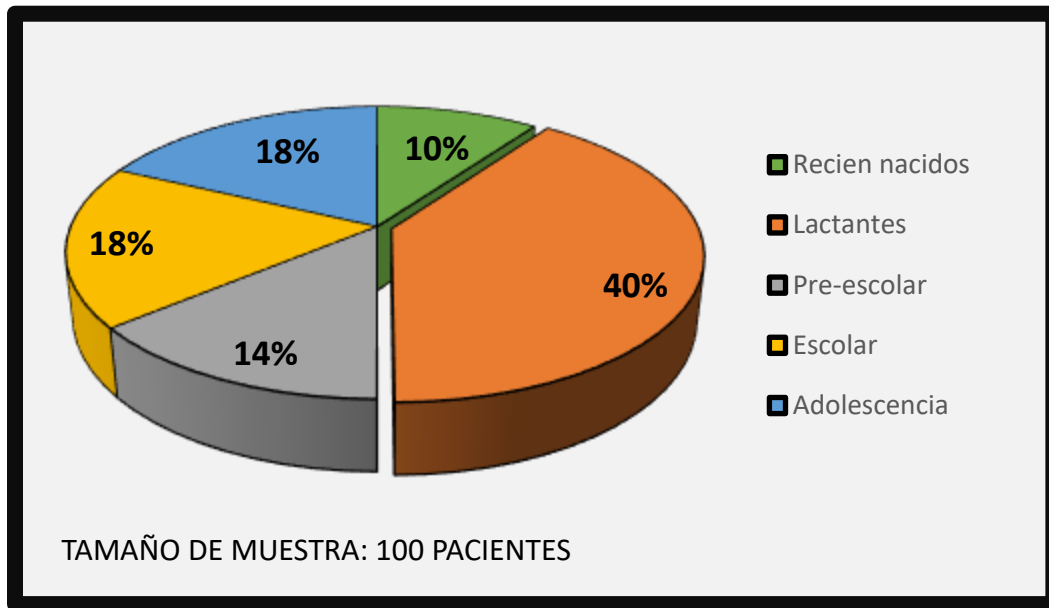


Figura 6: Edad de los pacientes pediátricos con infecciones de *Klebsiella* spp. CECADIM 2015-2022.

Las muestras donde fueron halladas las cepas de *Klebsiella* spp. fueron principalmente secreciones en un 48%, seguido en un 43% para líquidos, 6% para abscesos y en último lugar las muestras de tejidos representaron solo el 3% (Figura 7).

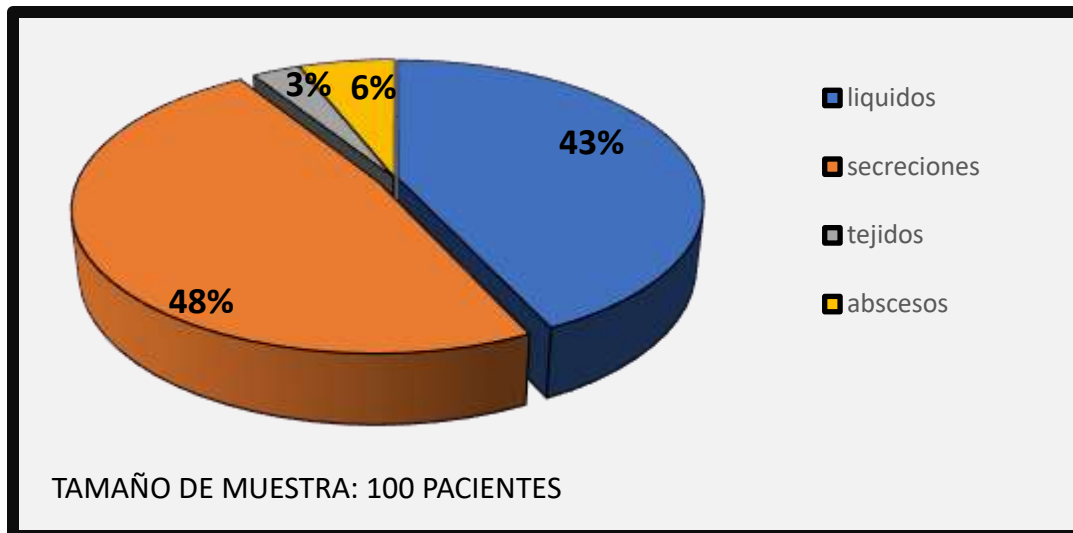
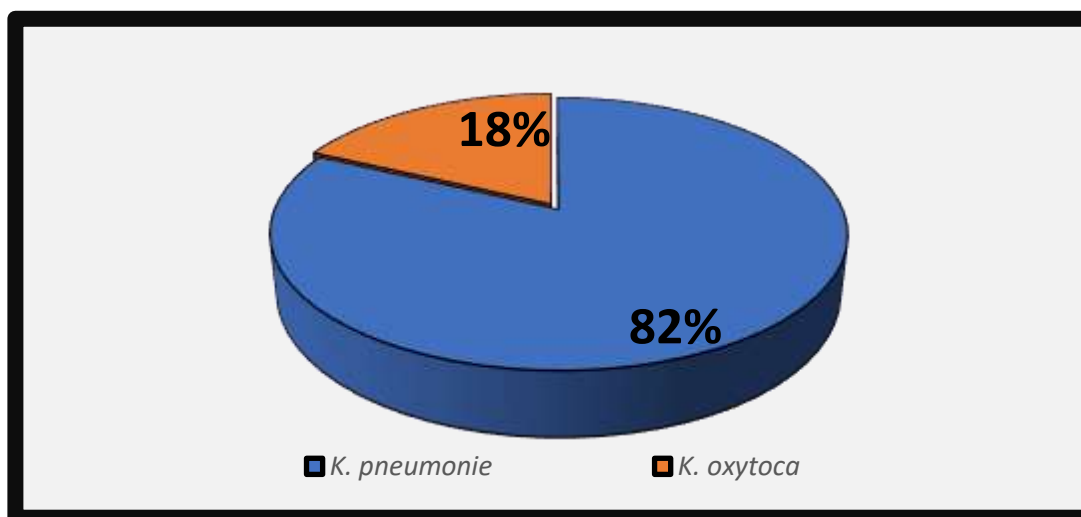


Figura 7: Muestras donde fueron obtenidas las cepas de *Klebsiella* spp. CECADIM 2015-2022. En esta imagen se presentan diversas muestras obtenidas de secreciones, incluyendo heridas quirúrgicas, exudados uretrales y vulvares, y secreciones de sitios de inserción de catéteres. Los líquidos corporales pertenecen a cavidades y conductos corporales, tales como peritoneales, ascíticos, biliares, de fistulas, sinoviales, pericárdicos, intestinales y uretrales.

La especie más frecuentemente aislada fue *K. pneumoniae* en un 82% seguida por



K. oxytoca en un 18% (Figura 8).

Figura 8: Especies de *Klebsiella* spp. CECADIM 2015-2022

En los cultivos donde se llevó a cabo el primer aislamiento de las cepas de *Klebsiella* spp., el 77% fueron cultivos polimicrobianos, mientras que el 23% restante correspondió a cultivos monomicrobianos (figura 9).

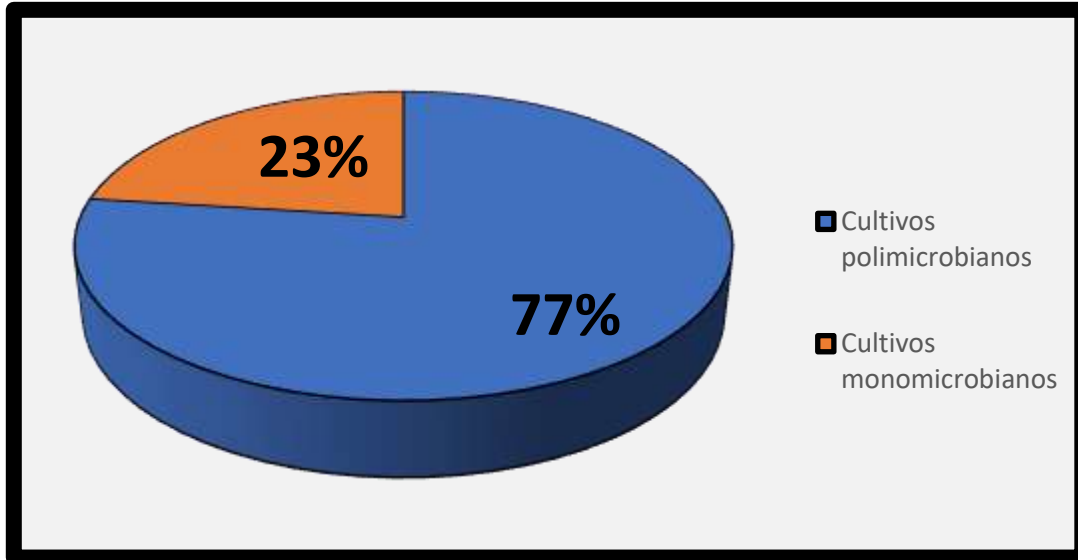


Figura 9: Cultivos polimicrobianos asociados a infecciones producidas por *Klebsiella* spp. CECADIM 2015 – 2022

De las infecciones registradas el 73% fueron polimicrobianas; 32 especies de bacterias fueron asociadas a *Klebsiella* spp. siendo *E. coli* la que mayor presencia tuvo, seguida por *E. cloacae* y en tercer lugar a *E. faecalis* y a *P. aeruginosa* (figura 10).

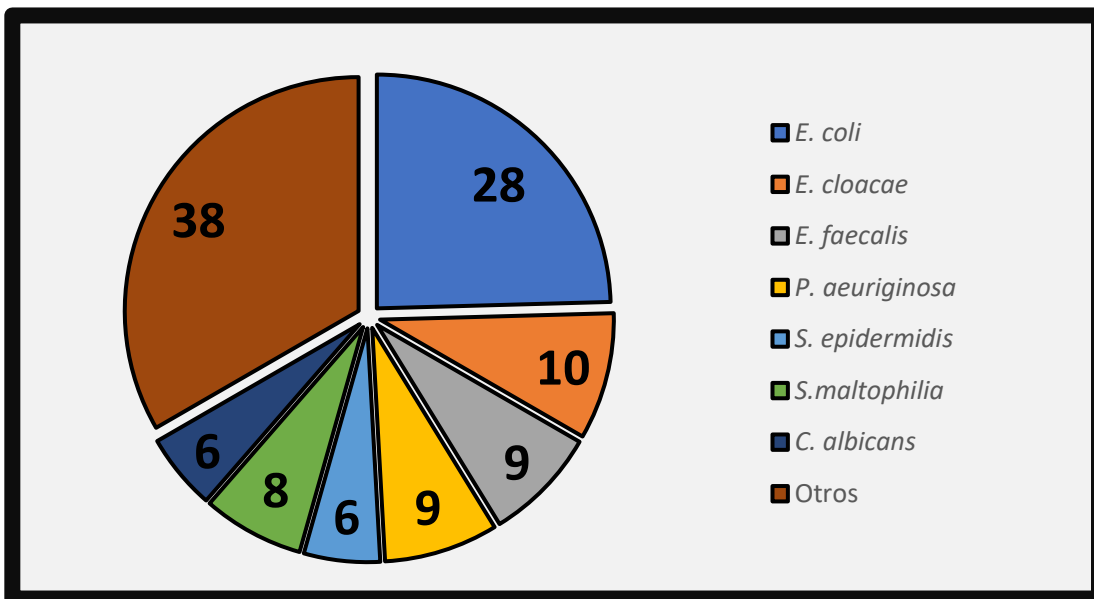


Figura 10: Cepas bacterianas coinfectantes con *Klebsiella* spp. de la colección del CECADIM aisladas en el periodo del 2015-2022.

Entre los cultivos polimicrobianos que contenían cepas de *E. coli*, se identificaron 20 casos con cepas de *Klebsiella* spp. BLEE+ y en 8 casos se observó una coexistencia de cepas de *Klebsiella* spp. BLEE- con las cepas de *E. coli* (figura 11).

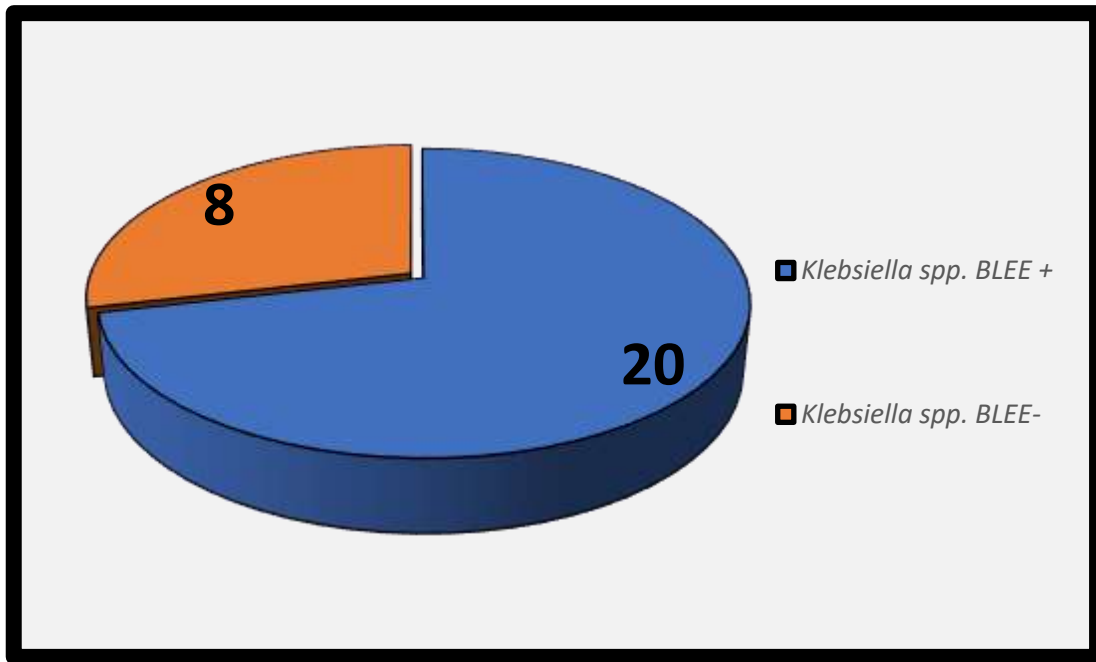
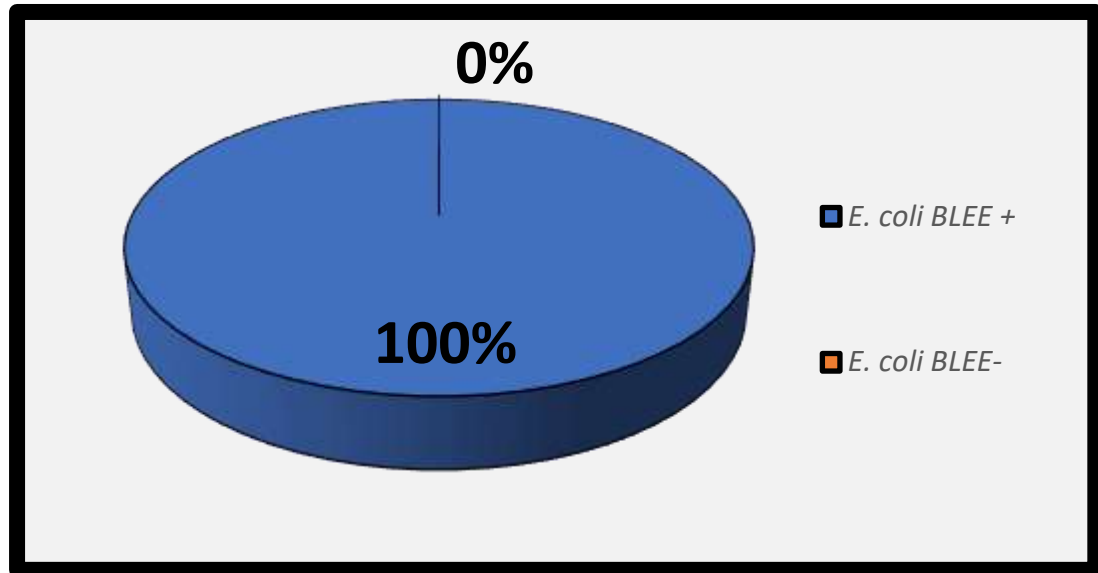


Figura 11: Presencia de BLEE en cepas de *Klebsiella* spp. asociadas a *E. coli* CECADIM 2015-2022

De las cepas de *E. coli* aisladas junto con cepas de *Klebsiella* spp. BLEE+, se observó que el 100% de ellas también presentaban resistencia de tipo BLEE (figura 12).



**Figura 12: Cepas de *E. coli* con y sin BLEE asociadas a cepas de *Klebsiella* spp. con BLEE
CECADIM 2015-2022**

La mayor recolección de cepas de *Klebsiella* se realizó en el año 2016 con 17 cepas seguido por los años 2015 y 2018 con 16 y 15 cepas respectivamente (Figura 13).

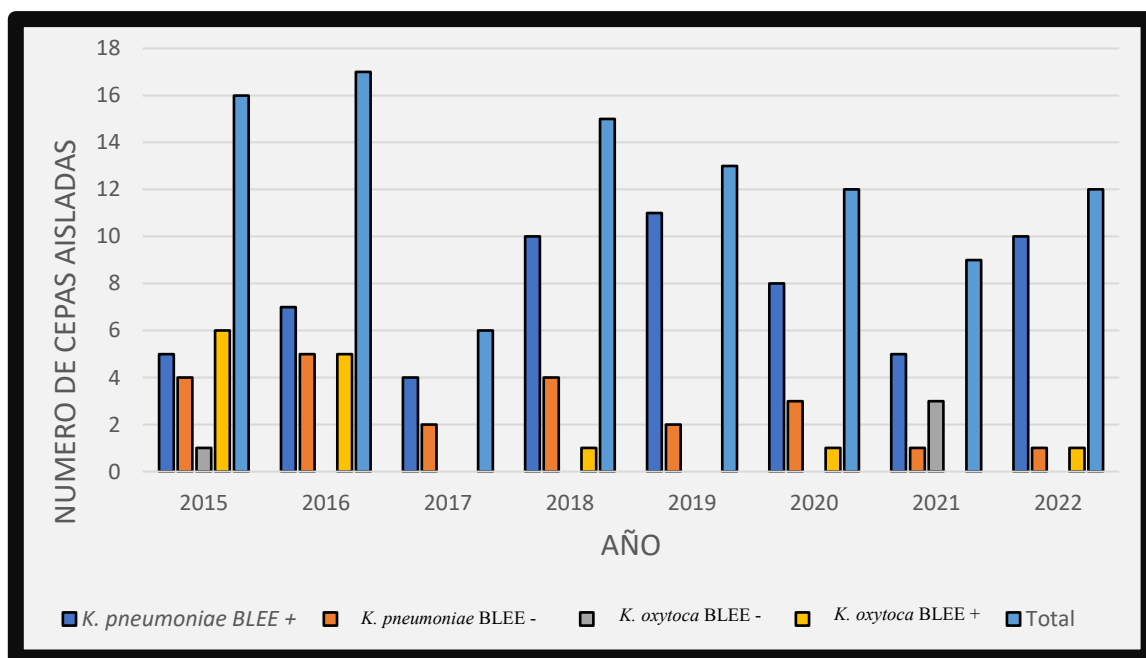


Figura 13: Cepas de *Klebsiella* spp. productoras y no productoras de BLEE recuperadas por año CECADIM 2015 - 2022

Entre el periodo de 2015 a 2021, se aislaron cepas de *Klebsiella* spp., de las cuales el 64% resultaron ser positivas para la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), mientras que el 36% no presentaron esta característica. (Figura 14).

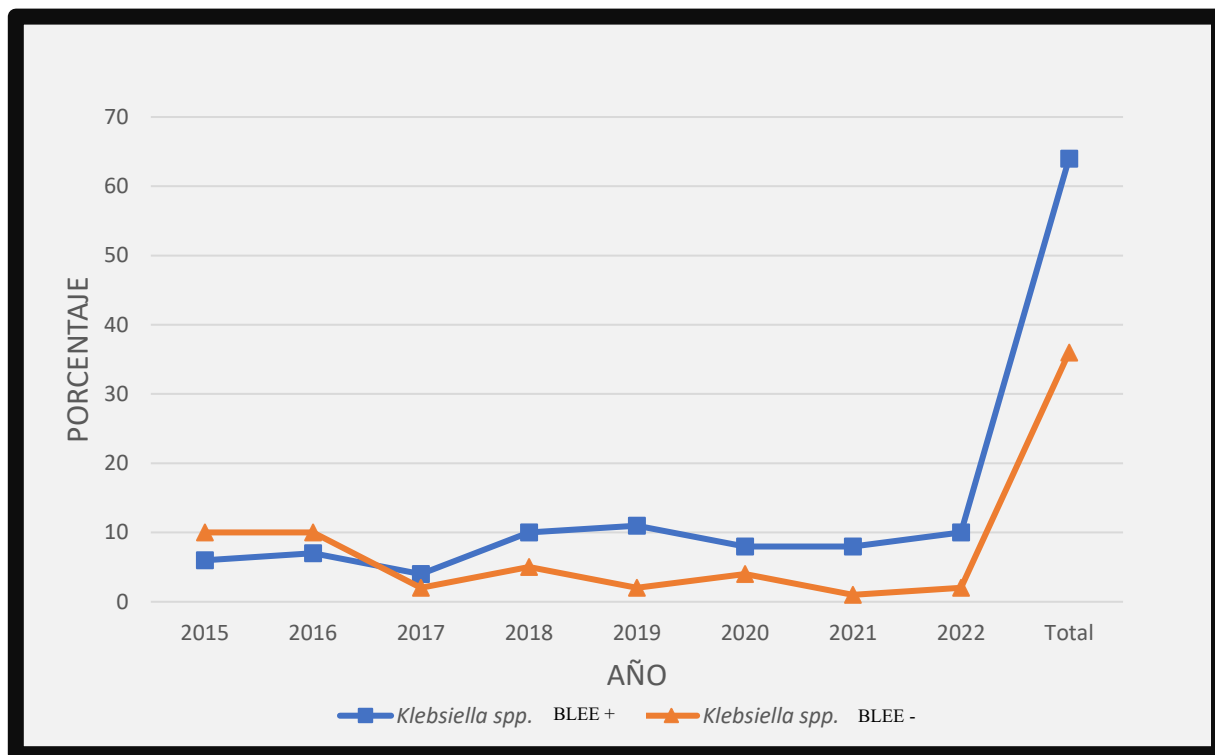


Figura 14: Cepas de *Klebsiella* spp. productoras y no productoras de BLEE por año CECADIM 2015 - 2022

Se realizó el perfil de sensibilidad a los antimicrobianos en las 100 cepas estudiadas. El 100% de las cepas resultaron sensibles a meropenem e imipenem, seguido en porcentaje de sensibilidad por amikacina con 84%, gentamicina con 62%, ciprofloxacino con 44%, trimetoprim/sulfametoxazol con 40%, amoxicilina/clavulánico con 37%, aztreonam, ceftazidima, ceftriaxona, cefotaxima, cefuroxima y cefepime con 36%, ampicilina/sulbactam con 33% (Figura 15).

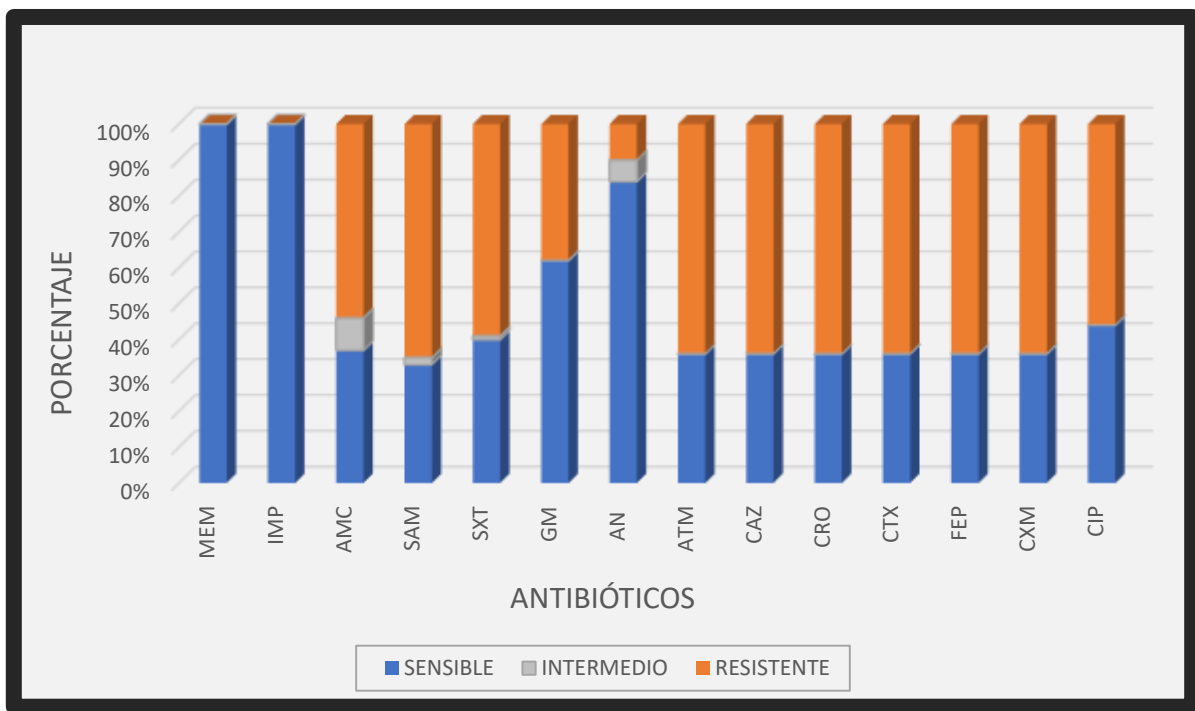


Figura 15: Perfil de sensibilidad de las cepas de *Klebsiella* spp. recuperadas de pacientes pediátricos CECADIM 2015 - 2022

En las cepas BLEE negativas el 100% de ellas fueron sensibles a meropenem, imipenem, aztreonam, ceftriaxona, ceftazidima, cefepime, cefotaxima y cefuroxima, el 97% a amikacina, el 94% a gentamicina, el 89% a ciprofloxacino, el 83% a trimetoprim/sulfametoxazol, el 81% a amoxicilina/clavulánico y el 75% a ampicilina/sulbactam (Figura 16).

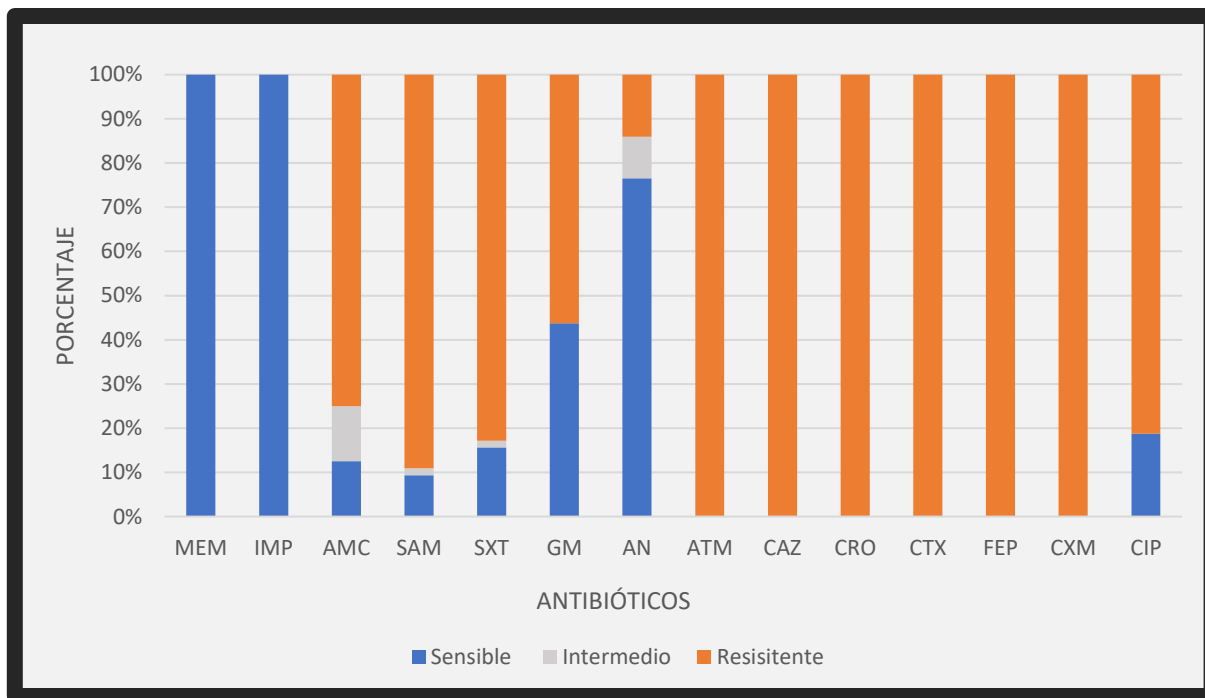


Figura 16: Perfil de sensibilidad de las cepas de *Klebsiella* spp. BLEE + recuperadas de pacientes pediátricos CECADIM 2015 - 2022

Entre de las cepas BLEE positivas el 100% de ellas fue sensible a meropenem e imipenem, el 77% a amikacina, el 44% a gentamicina, el 19% a ciprofloxacino, el 16% a trimetoprim/sulfametoxazol, el 13% a amoxicilina/clavulánico, el 9% a ampicilina/sulbactam y el 0% fue sensible a aztreonam, ceftriaxona, ceftazidima, cefepime, cefotaxima y cefuroxima (figura 17).

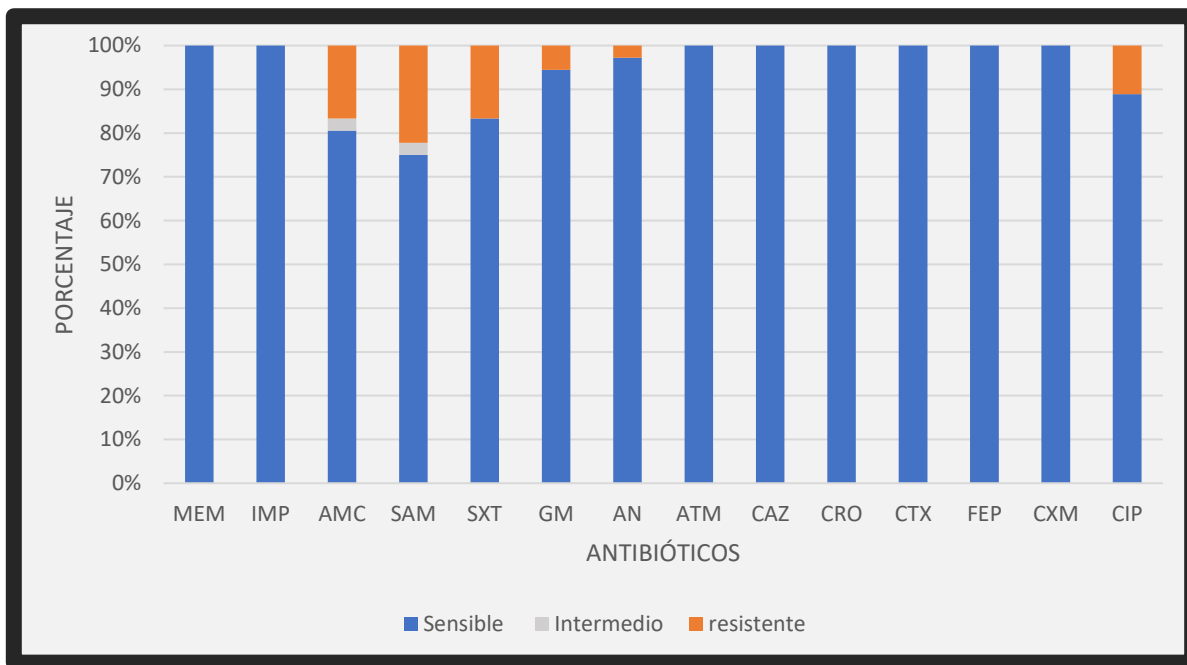


Figura 17: Perfil de sensibilidad de las cepas de *Klebsiella* spp. BLEE - recuperadas de pacientes pediátricos CECADIM 2015 - 2022

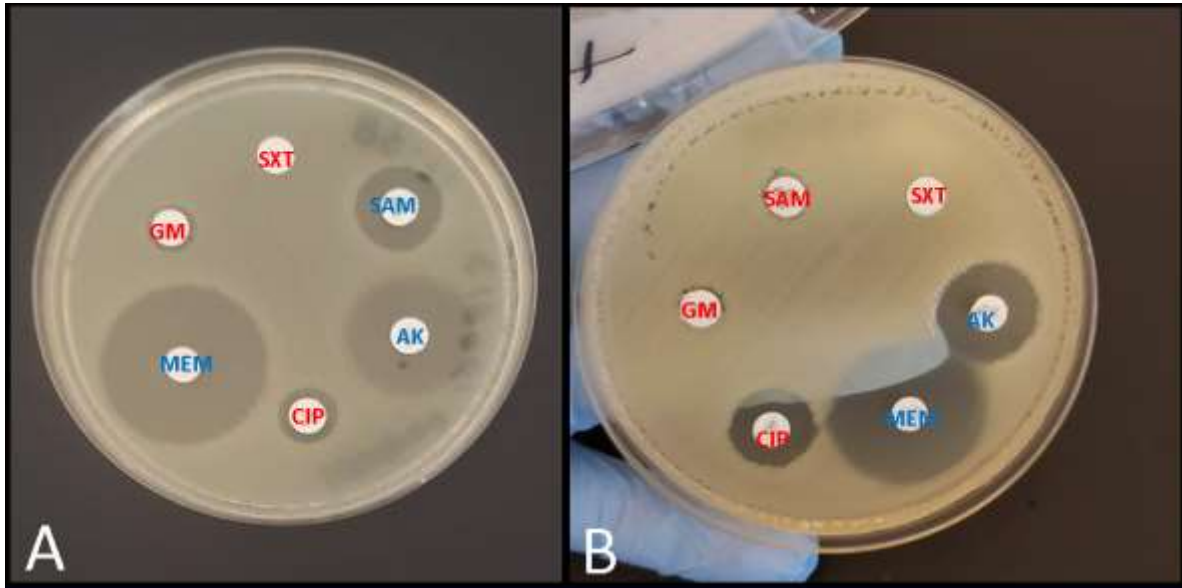


Figura 18: Crecimiento e inhibición en antibiograma de las cepas de *Klebsiella* spp. pertenecientes a la colección del CECADIM, periodo del 2015-2022. Antibióticos usados GM (10 µg), AK (30 µg), CIP (5 µg), MEM (10 µg), SAM (10/10 µg) y SXT (1.25/23.75 µg)

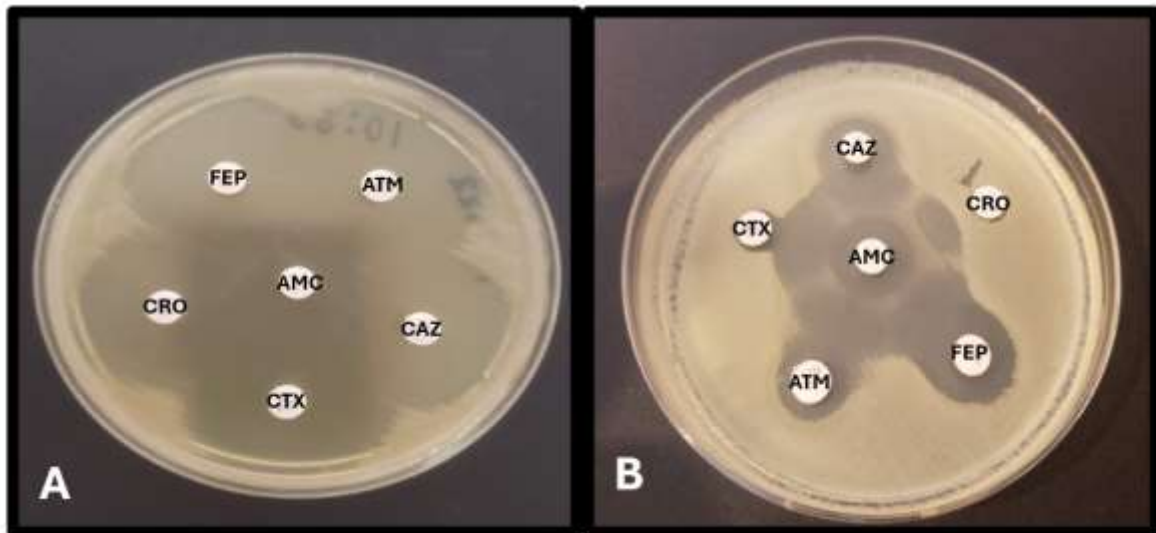


Figura 19: Cepas de *Klebsiella* spp. productoras y no productoras de BLEE pertenecientes a la colección del CECADIM, periodo del 2015-2022. A) Cepa no productora de BLEE. B) Cepa productora de BLEE con patrones fenotípicos de “cola de pescado” y “balón de fútbol americano”. Antibióticos usados CAZ (30 µg), CTX (30 µg), ATM (15 µg), CRO (30 µg), FEP (75 µg) y AMC (20/10 µg)

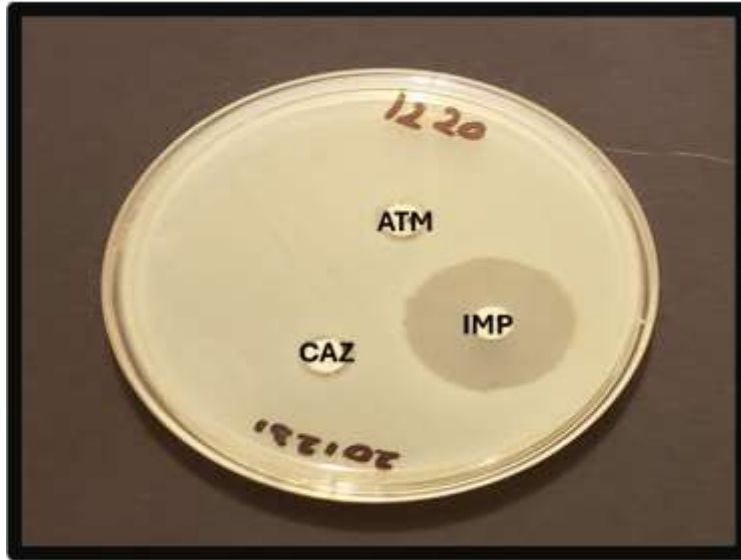


Figura 20: Cepa de *Klebsiella* spp. no productora de AmpC. Antibióticos utilizados IMP (10 µg), CAZ (30 µg) y ATM (15 µg)

9. DISCUSIÓN

Las infecciones microbianas son de las causas líder de mortalidad y morbilidad en países en vías de desarrollo. Esta problemática es difícil de combatir debido a la presencia de un alto índice de resistencia a antibióticos entre los diferentes patógenos que causan estas infecciones (Chavolla, 2018). Las especies del género *Klebsiella* como, *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* (que son las especies más frecuentemente aisladas) son de gran importancia, debido a su gran capacidad infecciosa, causando un amplio rango de enfermedades, incluyendo problemas en vías respiratorias, infecciones del tracto urinario, heridas quirúrgicas, tejidos blandos y septicemias, estas con repercusiones clínicas y económicas (Echeverri *et al*, 2010).

En este estudio se analizaron 100 cepas de *Klebsiella* spp. de pacientes pediátricos, obtenidas de la colección del CECADIM, incluidas solo cepas que cumplieran con los requisitos de inclusión. Las infecciones causadas por *Klebsiella* spp. fueron más comunes en pacientes masculinos (figura 5), lo que se compara con otros estudios realizados en diversos países como lo son Colombia (Márquez *et al*, 2016) y España (Rojo *et al*, 2018). Respecto a la edad el grupo más afectado fue el de los lactantes (figura 6), esto coincide con la información obtenida de artículos diversos donde se menciona que *Klebsiella* spp. afecta comúnmente a este grupo en paciente pediátricos (Pérez *et al*, 2019; Molina, 2011).

El análisis de las muestras biológicas para infecciones por *Klebsiella* spp. se dividió en cuatro grupos: Secreciones, líquidos, abscesos y tejidos (figura 7). Se halló que las secreciones y los líquidos fueron las muestras donde más se aislaron las cepas de *Klebsiella* spp., la mayoría de estas secreciones y líquidos fueron obtenidos de líquido peritoneal, secreciones vulvares, estas zonas al ser cercanas al conducto gastrointestinal podría sugerir una contaminación fecal (Podschun y Ullmann, 1998), además, en las infecciones polimicrobianas otras enterobacterias como *E. coli*, *E. cloacae* y *E. faecalis* fueron las más aisladas (figura 10) lo que refuerza esta posibilidad. Con relación a este aspecto, la correcta higiene de los pacientes pediátricos juega un papel muy importante para evitar la contaminación de heridas, por lo que es necesario capacitar a los padres para la adecuada higiene de sus hijos (Lupián *et al*, 2014).

Algunas posibles fuentes de contaminación de *Klebsiella* spp. incluyen la exposición de heridas al medio ambiente, agua o tierra que contenga el patógeno. Infecciones severas en pacientes pediátricos causadas por cepas de *Klebsiella* spp., como ya se mencionó generalmente involucran a pacientes inmunocomprometidos (Echeverri *et al*, 2010).

De las cepas estudiadas 82 fueron de *K. pneumoniae* y 18 de *K. oxytoca* (figura 8) mostrando la gran diferencia de infecciones causadas por este género de bacterias, en este análisis la proporción de infecciones causadas por cada especie fue de 4.5 a 1 respectivamente. Lo anterior tiene relación con lo establecido en el libro “The Prokaryotes” las infecciones por *Klebsiella* spp. son causadas principalmente por *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* en una proporción estimado en 2 a 1 o 4 a 1 (Starr, 1981).

Siguiendo con el análisis de los resultados, podemos observar que a lo largo del periodo en el que fueron recolectas las cepas de *Klebsiella* spp. solo en el 2015 y 2016 las cepas de *Klebsiella* spp. BLEE- fueron las más aisladas, además de que en este tiempo fue cuando las cepas de *K. oxytoca* prevalecieron ante las *K. pneumoniae*., por otro lado, a partir del año 2017 al 2022 las cepas que más prevalecieron fueron aquellas *Klebsiella* spp. BLEE positivas además de que el aislamiento de *K. oxytoca* fue prácticamente nulo; el aislamiento de cepas BLEE positivas fue un 28% más que el de cepas BLEE negativas (figura 13), lo que podría indicar un aumento de las cepas resistentes a las cefalosporinas a través de los años.

La mayoría de las especies de *Klebsiella* spp. han sido reportadas como multirresistentes a diversos antibióticos como la amikacina, gentamicina, ampicilina-sulbactam, amoxicilina-clavulánico, trimetoprim/sulfametoxazol, aztreonam y aceftazidima, ceftriaxona, cefotaxima, cefuroxima y cefepime, sin embargo, existen reportes donde se han recuperado cepas de *Klebsiella* multirresistentes con presencia de carbapenemasas (Perozo, 2016).

Uno de los mecanismos de resistencia más importantes en las cepas *Klebsiella* spp. es la expresión de una o varias enzimas β -lactamasa, con actividad contra los antibióticos β -lactámicos como: penicilinas, cefalosporinas, cefalosporinas de espectro extendido y en menor medida a carbapenémicos (Bush y Bradford, 2016).

Del total de las cepas analizadas el 54% fue resistente a amoxicilina/clavulánico 65% a ampicilina/sulbactam, antibióticos clasificados como inhibidores de las β -lactamasas. La

resistencia a las penicilinas asociadas con inhibidores de las β -lactamasas es entendible debido a que estos fármacos fueron de los más utilizados para combatir las infecciones bacterianas, por lo tanto, se generaron mutaciones de las enzimas blanco de los inhibidores de β -lactamasas, para inhibir su funcionamiento, a su vez estos son los fármacos que más resistencia han generado en las bacterias (Spagnolo *et al*, 2021), incluyendo a *Klebsiella* spp.

Respecto a las cefalosporinas el 64% fue resistente a ceftriaxona y cefotaxima, cefalosporinas de tercera generación, a cefepime, cefalosporina de cuarta generación y a aztreonam un monobactámico, este resultado junto con las pruebas fenotípicas de difusión de disco indica la presencia de BLEE, por otro lado, no se presentó resistencia a meropenem e imipenem lo que sugiere que ninguna cepa es productora de carbapenemasas.

Las cepas estudiadas a su vez presentaron resistencia de 10% a la amikacina, 38% a gentamicina, 59% a trimetoprim/sulfametoxazol y 56% a ciprofloxacino (figura 15); la resistencia a los aminoglucósidos estudiados varía a pesar de que pertenecen al mismo grupo de antibióticos, debido a que la acción terapéutica de la gentamicina puede ser comprometida por una mayor cantidad de enzimas que el de la amikacina (Brito *et al* 2000).

La resistencia observada varió significativamente entre las cepas de bacterias productoras y no productoras de BLEE. Solamente el 22% de las cepas BLEE negativas mostraron resistencia a ampicilina/sulbactam, mientras que el 17% y el 6% presentaron resistencia a amoxicilina/clavulánico y trimetoprim/sulfametoxazol, respectivamente. En cuanto a gentamicina y amikacina, solo el 3% y el 6% de las cepas BLEE negativas demostraron resistencia, respectivamente (figura 17). Adicionalmente, se identificó una única cepa en este grupo que exhibió multiresistencia a gentamicina, trimetoprim/sulfametoxazol, ampicilina/sulbactam y amoxicilina/clavulánico.

Por otro lado, las cepas BLEE positivas mostraron tasas significativamente más altas de resistencia a diversos antibióticos. El 14% de estas cepas fue resistente a amikacina, el 56% a gentamicina, el 81% a ciprofloxacino, el 84% a trimetoprim/sulfametoxazol, el 87% a amoxicilina/clavulánico y el 91% a ampicilina/sulbactam (figura 16). Este patrón nos podría indicar que existe una mayor susceptibilidad de las cepas BLEE positivas a desarrollar resistencia a múltiples agentes antibióticos en comparación con las cepas BLEE negativas; la marcada diferencia en la multiresistencia a las diversas familias de antibióticos entre las

cepas de *Klebsiella* spp. BLEE positivas y BLEE negativas podría deberse a la presencia de otros mecanismos de resistencia como la disminución en la permeabilidad, cambios cromosómicos de los sitios blanco, presencia de bombas de expulsión y presencia de otras enzimas modificadoras de antibióticos en el cromosoma o en plásmidos (Oliver, s.f.).

Por lo antes mencionado y con los resultados obtenidos donde se muestra el creciente y preocupante aumento de bacterias productoras de BLEE, se deben tomar medidas para evitar el aumento de la resistencia bacteriana seleccionando el antibiótico más adecuado dependiendo de diversas variables como lo son la gravedad y estado general del paciente, la consideración de los microorganismos más probables, el conocimiento del estado actual de resistencias de los posibles microorganismos implicados, la farmacocinética y la farmacodinámica de los antibióticos, los efectos secundarios y el coste de los antimicrobianos, la vía de administración y la duración del tratamiento.

Dentro de los antibióticos menos afectados por la resistencia antibacteriana en bacterias productoras de BLEE, están los carbapenémicos por lo cual son un tratamiento efectivo contra *Klebsiella* spp., sin embargo, es importante mencionar que como establece Gallagher y colaboradores en “Antibiotics Simplified” publicado en el año 2018, el uso y abuso de los antibióticos causa resistencia antimicrobiana. Además, a pesar de que los carbapenémicos son los antibióticos más eficaces contra bacterias productoras de BLEE, no deben de ser considerados como tratamiento empírico, estos fármacos son el último recurso para el tratamiento de bacterias gramnegativas multirresistentes y su uso irracional puede llegar a causar resistencia a estos (Montesinos *et al*, 2013).

Se recomienda iniciar el tratamiento empírico dependiendo a la incidencia microbiana y a resistencia de la zona, realizando el estudio microbiológico lo más pronto posible para tener el resultado del antibiograma y así dirigir el tratamiento antimicrobiano más óptimo con estos resultados.

10. CONCLUSIONES

- El sexo mayormente afectado en este estudio fue el sexo masculino.

- En este estudio hay mayor incidencia de infecciones por *Klebsiella* en lactantes.
- La mayor prevalencia de infecciones causadas por *Klebsiella*, es producida por *K. pneumoniae* en comparación con *K. oxytoca*.
- Las cepas de *Klebsiella* spp. en este estudio se aislaron de líquidos pertenecientes a cavidades y conductos corporales y secreciones obtenidas de heridas quirúrgicas, exudados uretrales y vulvares.
- Las cepas presentaron una resistencia mayor al 50% a ciprofloxacino, aztreonam, ceftazidima, ceftriaxona, cefotaxima, cefepime, cefuroxima, amoxicilina/clavulánico , ampicilina/sulbactam y trimetoprim/sulfametoxazol, además, de una sensibilidad del 100% a carbapenémicos.
- Las BLEE, son uno de los principales mecanismos de resistencia en las cepas de *Klebsiella*.
- Ninguna de las cepas estudiadas presentó carbapenemasas ni enzimas tipo AmpC.

11. PERSPECTIVA

- Determinación del entorno genético de las BLEE identificadas en las cepas de *Klebsiella* spp. de este estudio:

La investigación fenotípica puede ser complementada con estudios moleculares para identificar los genes específicos responsables de la producción de BLEE, así mismo saber si estos se encuentran en el plásmido o cromosoma bacteriano, esto podría proporcionar información más detallada sobre la resistencia y ayudar en el diseño de estrategias específicas para combatir a dichas bacterias.

- **Identificar otros mecanismos de resistencia en las cepas de *Klebsiella* spp. de este estudio:**

Buscar y validar nuevos marcadores fenotípicos de resistencia en las cepas de *Klebsiella* productoras de BLEE, que les confieran resistencia a otros antibióticos.

- **Propuestas de estrategias para la prevención infecciones causadas por *Klebsiella* spp.**

Proponer estrategias para el manejo clínico de infecciones causadas por *Klebsiella*, educar sobre medidas de higiene y protocolos para mejorar la conciencia sobre el uso de antibióticos, tanto para los profesionales de la salud y comunidad en general.

12. ANEXOS

CEPA	CARBAPENEMICOS		COMPUESTOS	COMPUESTOS	FOLATOS	AMINOGLUCOSIDOS		MONOBAT	CEFALOSPORINAS					QUINOLONA
	MEM	IMP	AMC	SAM	SXT	GM	AN	ATM	CAZ	CRO	CTX	FEP	CXM	CIP
2022														
220949	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	S
220860-3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
220822-1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
220749	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R
220745-1	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
220737	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R
220730-2	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
220625-2	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
220537-2	S	S	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
220504-2	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R
220337-1	S	S	S	S	I	S	S	R	R	R	R	R	R	R
220336-1	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
2021														
210809-2	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
210656-2	S	S	I	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R
210653	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S
210647-3	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
210610-3	S	S	I	R	R	S	I	R	R	R	R	R	R	S
210610-1	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S
210605-1	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R
210550-1	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
210452-1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Tabla 1: Sensibilidad a los antimicrobianos de 21 cepas de *Klebsiella* spp. recuperadas de pacientes pediátricos CECADIM 2015-2022

CEPA	EDAD	TIPO DE MUESTRA	SEXO
220949	8 Años	Secrecion vulvar	F
220860-3	17 Años	Líquido peritoneal	M
220822-1	7 Meses	líquido peritoneal	M
220749	13 Años	Líquido de rodilla	F
220745-1	1 Año	liquido peritoneal	M
220737	13 Años	H. quirurgica Muslo	F
220730-2	3 Años	H. quirurgica Abdominal	M
220625-2	17 Años	Secrecion Vulvar	F
220537-2	1 Mes	Líquido peritoneal	M
220504-2	5 Meses	liquido peritoneal	M
220337-1	2 Meses	Absceso en brazo	F
220336-1	5 Meses	Líquido Pleural	M
210809-2	14 Años	Liquido pleural	F
210656-2	13 Años	Herida quirurgica	M
210653	11 Años	Líquido de fistula	M
210647-3	10 Dias	Herida quirurgica	M
210610-3	1 Mes	Líquido uretral	F
210610-1	1 Mes	Líquido uretral	F
210605-1	2 Meses	Líquido Peritoneal	M
210550-1	6 Años	Absceso retroesplenico	M
210452-1	11 Años	Líquido peritoneal	M

Tabla 2: Edad, tipo de muestra y sexo de 21 pacientes pediátricos de los cuales se aislaron cepas de *Klebsiella* spp., recuperadas durante el período 2015-2022 de pacientes pediátricos CECADIM 2015-2022

CEPA	BACTERIAS ASOCIADAS
220949	<i>M. Morganii, E. faecium</i>
220860-3	<i>E. cloacae, E. faecium</i>
220822-1	NINGUNA
220749	NINGUNA
220745-1	NINGUNA
220737	NINGUNA
220730-2	<i>E. coli, E. faecalis, E. cloacae</i>
220625-2	<i>E. coli</i>
220537-2	<i>S. maltophilia</i>
220504-2	<i>E. coli</i>
220337-1	NINGUNA
220336-1	<i>S. maltophilia</i>
210809-2	<i>E. coli</i>
210656-2	<i>K. pneumoniae</i>
210653	<i>E. coli</i>
210647-3	<i>E. coli, S. epidermidis</i>
210610-3	<i>E. coli</i>
210610-1	<i>E. coli</i>
210605-1	<i>E. coli</i>
210550-1	<i>S. anginosus</i>
210452-1	<i>E. cloacae</i>

Tabla 3: Bacterias asociadas a infecciones causadas por *Klebsiella* spp. de 21 pacientes pediátricos recuperadas durante el período 2015-2022 de pacientes pediátricos CECADIM 2015-2022

CEPA	ESPECIE
2022	
220949	K. pneumoniae
220860-3	K. pneumoniae
220822-1	K. pneumoniae
220749	K. pneumoniae
220745-1	K. pneumoniae
220737	K. pneumoniae
220730-2	K. pneumoniae
220625-2	K. pneumoniae
220537-2	K. pneumoniae
220504-2	K. pneumoniae
220337-1	K. pneumoniae
220336-1	K. pneumoniae
2021	
210809-2	K. pneumoniae
210656-2	K. oxytoca
210653	K. oxytoca
210647-3	K. oxytoca
210610-3	K. pneumoniae
210610-1	K. pneumoniae
210605-1	K. pneumoniae
210550-1	K. pneumoniae
210452-1	K. pneumoniae

Tabla 4: Especies de *Klebsiella* spp. de 21 pacientes pediátricos recuperadas durante el período 2015-2022 de pacientes pediátricos CECADIM 2015-2022

13. BIBLIOGRAFÍA

- Anónimo. El asombroso número de muertes causadas por bacterias resistentes a los medicamentos. (2022). *Investig y Cienc*, <https://www.investigacionyciencia.es/noticias/el-asombroso-nmero-de-muertes-causadas-por-bacterias-resistentes-a-los-medicamentos-20683>
- Alós, J. I. (2009). Quinolonas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 27(5), 290–297. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2009.03.001>
- Alves, M. S., Dias, R. C. D. S., de Castro, A. C. D., Riley, L. W., Moreira, B. M. (2006). Identification of clinical isolates of indole-positive and indole-negative *Klebsiella* spp. *J Clin Microbiol*, 44(10), 3640–3646. <https://doi.org/10.1128/JCM.00940-06>
- Arenas, E., Polanco, C., Coronado, M., Durango, J., Gómez, A. (2009). Design of a molecular method for subspecies specific identification of *Klebsiella pneumoniae* by using the 16S ribosomal subunit gene. *Col Med*, 40(2), 194-201. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95342009000200007&lng=es&tlng=.](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95342009000200007&lng=es&tlng=)
- Balsalobre, L., Blanco, A., Alarcón, T. (2019). β -lactams. *Antibiotic Drug Resistance*, 57–72. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119282549>
- Brito, A, Landaeta, J.M, Roldán, Y, Marcano, M, Santos, J.R, Guzmán, M, & Carmona, O. (2000). Resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a la gentamicina, tobramicina amikacina en Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 20(1), 01. Recuperado en 02 de febrero de 2024, de [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562000000100009&lng=es&tlng=es.](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562000000100009&lng=es&tlng=es)
- Brunton L.L., Chabner, B.A., Knollmann B.C. (2017). Goodman & Gilman: Las Bases Farmacológicas De La Terapéutica, (13.^a ed) McGraw Hill. <https://accessmedicina.bibliotecabuap.elogim.com/content.aspx?bookid=2457§ionid=202826939>

- Buendía, V. M., Morales, S., Coca, J., Santos, L., & Soriano, J. A. (2020). Características clínicas y microbiológicas de infecciones por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas MBL, tipo NDM, Hospital Geriátrico San Isidro Labrador EsSalud, 2018. *Horiz Med (Lima)*, 20(2), e915. <https://dx.doi.org/10.24265/horizmed.2020.v20n2.04>
- Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010). Updated Functional Classification of β -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, 54(3), 969–976. <https://doi.org/10.1128/aac.01009-09>
- Bush, K., & Bradford, P. A. (2016). β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 6(8), a025247. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025247>
- Calfee, D. P. (2017). Recent advances in the understanding and management of *Klebsiella pneumoniae*. <https://doi.org/10.12688/f1000research.11532.1>
- Cantón, R., González-Alba, J. M., Galán, J. C. (2012). CTX-M enzymes: origin and diffusion. *Front Microbiol*, 3(110), 1-19. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00110>
- Chavolla, A., González, M. (2018). Factores de riesgo asociados con infección de la vía urinaria provocada por superbacterias. *Rev Mex Urol*. 78(6), 425-433. <https://doi.org/10.24245/revmexurol.v78i6.2111>
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100. (2023). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 33th
- Cué, B., Morejón M., Moisés, Rosa S. (2005). Actualidad de las quinolonas. *Rev Cubana Farm*, 39(1), 1. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152005000100011&lng=es&tlng=.
- Dong, N., Yang, X., Chan, E. W. C., Zhang, R., Chen, S. (2022). *Klebsiella* species: taxonomy, hypervirulence and multidrug resistance. *eBioMedicine*, 79, 103998. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.103998>
- Echeverri, L. M., & Cataño, J. C. (2010). *Klebsiella pneumoniae* como patógeno intrahospitalario: epidemiología y resistencia. *Iatreia*, 23(3), 240-249.

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-07932010000300006&lng=en&tlng=es.

- Evans, B., Amyes, S. G. (2014). OXA β -lactamases. *Clinic Microbiol Rev*, 27(2),241-263. <https://doi.org/10.1128/cmr.00117-13>
- Galani, I., Karaiskos, I., Giamarellou, H. (2021). Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*: mechanisms of resistance including updated data for novel β -lactamase inhibitor combinations. *Expert Rev Anti-infective Therapy*, 19(11), 1457–1468. <https://doi.org/10.1080/14787210.2021.1924674>
- Gallegos, V., Garza, U., Bolado, E., Navarro, M., Félix, K. R., Candia, M. D. C., Sanchez, G., Dúran, J., Silva, J. (2020). ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from health-care institutions in Mexico. *J Chemother*, 33(2), 122–127. <https://doi.org/10.1080/1120009x.2020.1861815>
- Geetha, P., Aishwarya, K. V., Mariappan, S., Sekar, U. (2020). Fluoroquinolone resistance in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *J lab phys*, 12(2), 121–125. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1716478>
- Giono, S., Santos, J. I., Morfín, M., Torres, F., Alcántar, M. (2020). Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. *Gac Med Mex*, 156(2), 172-180. <https://doi.org/10.24875/gmm.20005624>
- Krause, K. M., Serio, A. W., Kane, T. R., Connolly, L. E. (2016). Aminoglycosides: An overview. *Cold Spring Harb Perspect in Med*, 6(6), a027029. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a027029>
- Li, B., Zhao, Y., Liu, C., Chen, Z., Zhou, D. (2014). Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*. *Future Microbiol*, 9(9), 1071–1081. <https://doi.org/10.2217/fmb.14.48>
- Márquez, K., Rojas, A., Moreno, C. (2016). Caracterización de pacientes con aislamiento de klebsiella productora de carbapenemasa en un hospital pediátrico de tercer nivel de Bogotá, Colombia. *Infectio*, 20(4), 231-237. <https://doi.org/10.1016/j.infect.2015.11.001>
- Medina, D., García F. S., (2021). Patrones de resistencia bacteriana en urocultivos de un hospital de Chihuahua, México. *Med Int Méx*, 37(4), 494–505. <https://doi.org/10.24245/mim.v37i4.4083>

- Mella, S., Sepúlveda, M., Gonzales, G., Bello, H., Domínguez, M., Zemelman, R., Ramírez, C., (2004). Aminoglucósidos-aminociclitolos: Características estructurales y nuevos aspectos sobre su resistencia. *Rev Chil Infectol*, 21(4), 330-338. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182004000400007>
- Mendonça, J., Guedes, C., Silva, C., Sá, S., Oliveira, M., Accioly, G., Baylina, P., Barata, P., Pereira, C., Fernandes, R. (2022). New CTX-M Group conferring β -lactam resistance: A compendium of phylogenetic insights from biochemical, molecular, and structural biology. *Biol*, 11(2), 256. <https://doi.org/10.3390/biology11020256>
- Molina, J. C. (2011). Manejo de la infección urinaria en urgencias. *An Pediatría Contin*. 9(1), 7-14. [https://doi.org/10.1016/s1696-2818\(11\)70002-6](https://doi.org/10.1016/s1696-2818(11)70002-6)
- Montesinos, E., Llop, M., Soler, P., Olivera, M., Larrosa, N., Martíne, X., Figueras C. (2013). Uso de antibióticos carbapenémicos en enfermos pediátricos hospitalizados. Adecuación de su prescripción a un protocolo terapéutico. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 32(10), 647-653. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2013.10.013>
- Morejón, M. (2013). β -lactamasas de espectro extendido. *Rev Cubana Med*, 52(4), 272-280. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232013000400006&lng=es&tlng=es
- Moreno, C., González, R, Beltrán, C. (2009). Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. *Rev Otorrinolaringol Cir cabeza Cuello*, 69(2). <https://doi.org/10.4067/s0718-48162009000200014>
- Murray, C. J. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(21)02724-0)
- Navarro, M., Robles, R. E., Garibay, A., Ruiz, Eduardo. (2011). *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* comunitarias y hospitalarias productoras de β -lactamasas en hospitales de Hermosillo, Sonora. *Salud Públ Méx*, 53(4), 341-344. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342011000400009&lng=es&tlng=es.

- Oliver, A. Cantón, R. (s.f.). Enterobacterias productoras de β -lactamasas plasmídicas de espectro extendido, Recuperado en 12 de agosto de 2022, de <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/Blees.pdf>
- Paterson, D., Hujer K., Hujer A., Yeiser, B., Bonomo M., Rice L., Bonomo R., International *Klebsiella* Study Group (2003). Extended-spectrum β -lactamases in *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates from seven countries: dominance and widespread prevalence of SHV- and CTX-M-type β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, 47(11), 3554–3560.
<https://doi.org/10.1128/AAC.47.11.3554-3560.2003>
- Pérez, R. P., Ortega, M. J. C., Álvarez, J. A., Baquero-Artigao, F., Rico, J. C. S., Velasco, R., Campos, L. M., Gallego, B. C., Fernández, A. J. C., Calvo, C., Miguélez, S. A., Suárez, A. B., Vera, C. G., García, J. J. G., Herreros, M., De Liria, C. R. G. (2019). Recomendaciones sobre el diagnóstico y tratamiento de la infección urinaria. *An Pediatría*, 90(6), 400.e1-400.e9.
<https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2019.02.009>
- Perozo, A., Castellanos, M., Ling, E., Gómez, L., Ginestre, M., Rincón, G. (2016). Presencia de carbapenemasa tipo KCP en aislados clínicos de *K. pneumoniae* de pacientes de unidades de cuidados intensivos. *Kasmera*, 44(1), 44-52.
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222016000100007&lng=es&tlng=es.
- Podschun, R., Ullmann, U. (1998). *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev*, 11(4), 589–603. <https://doi.org/10.1128/cmr.11.4.589>
- Ponce, A., Rodríguez, E., Morfín, R., Cornejo, D. P., Tinoco, J. C., Martínez, A., Gaona, C. J., Guerrero, M. L., Martín, A., Vallejo, J. L., Sifuentes, J. (2018). Antimicrobial susceptibility of gram-negative bacilli isolated from intra-abdominal and urinary-tract infections in Mexico from 2009 to 2015: Results from the study for monitoring antimicrobial resistance trends (SMART). *Plos One*, 13(6), e0198621.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198621>

- Rada, A., Hernández, C., Restrepo, E., Virginia, M. Distribución y caracterización molecular de β -lactamasas en bacterias gram negativas en Colombia, 2001-2016. *Biomed*, 39:199-220. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v39i3.4351>
- Rojo, V. (2018). Factores de riesgo y evolución clínica de las infecciones causadas por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas en un hospital universitario de España. Estudio de casos y controles. *PubMed Central*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6194862/>
- Salazar, L. β -lactamasas: la evolución del problema. Retrieved May 2022, from <http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/100/100308007/html/>
- Shaikh, S., Fatima, J., Shakil, S., Rizvi, S. M. D., Kamal, M. A. (2015). Antibiotic resistance and extended spectrum β -lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi Biol Sci*, 22(1), 90–101. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.08.002>
- Spagnolo, F., Trujillo, M. y Dennehy, J. (2021). ¿Por qué existen los antibióticos? *MBio*, 12 (6), e0196621. <https://doi.org/10.1128/mBio.01966-21>
- Starr, P. (1981). *The Prokaryotes: a handbook on habitats, isolation, and identification of bacteria*. <http://ci.nii.ac.jp/ncid/BA04993744>
- The World Bank, Drug Resistant Infections: A threat to our economic future. (2017). Retrieved May 2022, from <https://www.bancomundial.org/es/news/press-release/2016/09/18/by-2050-drug-resistant-infections-could-cause-global-economic-damage-on-par-with-2008-financial-crisis>
- Urquiza, G., A, J., Alanoca, G. (2018). Resistencia bacteriana por β -lactamasas de espectro extendido: un problema creciente. *Rev Méd La Paz*, 24(2), 77-83. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-89582018000200012&lng=es&tlng=es.
- Weiner, L., Webb, A., Limbago, B., Dudeck, M., Patel, J., Kallen, A., Sievert, D. (2016). Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: Summary of data reported to the national healthcare safety network at the centers for disease control and prevention, 2011–2014. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 37(11), 1288-1301. doi:10.1017/ice.2016.174
- Woerther, P. L., Burdet, C., Chachaty, E., & Andremont, A. (2013). Trends in human fecal carriage of extended-spectrum β -lactamases in the community: toward the

globalization of CTX-M. *Clin microbiol reviews*, 26(4), 744–758.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00023-13>