



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO**

División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Departamento de Sistemas Biológicos



Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

INFORME DE SERVICIO SOCIAL

“Identificación fenotípica de carbapenemasas y β -lactamasas tipo AmpC en *Klebsiella pneumoniae* aislada de muestras de orina de pacientes con infecciones de tracto urinario recurrentes”

PRESENTA

Fragoso Serna Denisse Cristina

Matrícula: 2203059341

Asesor interno: Dra. Pérez Ramos Julia **No. económico:** 9814

Asesor externo: Dr. Hernández Chiñas Ulises **No. de cédula:**

7336812

Lugar de realización: Laboratorio de patogenicidad bacteriana.
Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG)

Fecha de inicio: 25/11/24

Fecha de término: 26/05/25

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
OBJETIVO GENERAL.....	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
JUSTIFICACIÓN	3
MARCO TEÓRICO.....	4
1. Características morfológicas y bioquímicas de <i>K. pneumoniae</i>	4
2. Factores de virulencia.....	4
3. Relevancia clínica	4
4. <i>K. pneumoniae</i> y su resistencia a los carbapenémicos	5
5. Clasificación de carbapenemasas.....	5
6. Tratamientos actuales y alternativas para <i>K. pneumoniae</i> resistente a carbapenémicos	9
HIPÓTESIS	10
TIPO DE ESTUDIO.....	10
DESCRIPCIÓN DEL ÁMBITO DE ESTUDIO	11
VARIABLES	11
MATERIALES Y MÉTODOS	11
INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	14
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	14
CONCLUSIÓN.....	18
BIBLIOGRAFÍA.....	19
ANEXOS.....	22

INTRODUCCIÓN

Las infecciones del tracto urinario (ITU) se definen como la presencia de microorganismos patógenos en la orina o en estructuras anatómicas como la uretra, vejiga, próstata o riñones. En la mayoría de los casos, se considera que existe una infección significativa cuando el recuento bacteriano en una muestra de orina supera las 10^5 UFC/mL. Diversos microorganismos pueden causar ITU, aunque los más frecuentes son bacilos gramnegativos procedentes del tracto gastrointestinal, siendo *Escherichia coli* el agente etiológico predominante, responsable de aproximadamente el 80 % de los casos. Otros patógenos como *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus* spp. tienen menor prevalencia, pero su importancia ha ido en aumento, especialmente en entornos hospitalarios, debido al uso extendido de antibióticos de amplio espectro, procedimientos invasivos y sondas urinarias (Pharmaceutical Letter, 2024).

Dentro de la familia Enterobacteriaceae, *K. pneumoniae* se destaca como uno de los patógenos emergentes más relevantes (Adhyaru *et al.*, 2024). Según Rahmat *et al.* (2024), esta bacteria forma parte de la microbiota normal del tracto gastrointestinal (TGI) en humanos y animales, y ha evolucionado como un microorganismo oportunista resistente a múltiples antimicrobianos, responsable de un tercio de las infecciones por bacilos gramnegativos. Ha sido aislada de diversos ambientes, incluidos el suelo y el agua, y figura en la lista de patógenos de prioridad crítica de la Organización Mundial de la Salud (OMS), dentro del grupo ESKAPE, caracterizado por su alta capacidad de adquirir resistencia antimicrobiana (Adhyaru *et al.*, 2024).

Su creciente presencia en el ambiente ha ido acompañada del aumento de elementos de resistencia, como los genes de resistencia a antibióticos (ARG). Adhyaru *et al.* (2024) describen a *K. pneumoniae* como un “traficante clave” de ARG desde animales y ambientes hacia humanos, lo cual subraya la importancia de su vigilancia epidemiológica.

Entre los distintos mecanismos de resistencia a los antimicrobianos (RAM), la resistencia a los antibióticos β -lactámicos merece especial atención. Esta puede deberse a múltiples factores, como el aumento de la actividad de bombas de eflujo, alteraciones en los sitios diana o la inactivación enzimática mediante β -lactamasas. Particularmente, la producción de β -lactamasas es preocupante, ya que sus genes se localizan frecuentemente en elementos genéticos móviles, lo que favorece su transferencia horizontal entre bacterias patógenas y comensales (Tsitsos *et al.*, 2025). Por lo tanto, el presente estudio tiene como objetivo evaluar la presencia de mecanismos enzimáticos de resistencia a antibióticos, específicamente la producción de carbapenemasas y β -lactamasas tipo AmpC, en cepas de *K. pneumoniae* aisladas de muestras de orina de pacientes con ITU recurrentes.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las ITU de origen bacteriano se encuentran entre las infecciones más comunes que afectan al ser humano a lo largo de su vida y constituyen un problema de salud tanto en el ámbito nosocomial como comunitario, principalmente debido al incremento en la prevalencia de bacterias resistentes a los antibióticos (Morochó & Ortiz, 2024).

Entre los agentes antimicrobianos más utilizados a nivel mundial se encuentran los antibióticos β -lactámicos, dentro de los cuales los carbapenémicos destacan por su eficacia frente a infecciones causadas por bacterias multirresistentes, gracias a su amplio espectro de actividad que abarca tanto bacterias Gram positivas como Gram negativas. Sin embargo, el uso indiscriminado y prolongado de estos antibióticos ha favorecido la aparición y propagación de mecanismos de resistencia, reduciendo significativamente su efectividad terapéutica (Adhyaru *et al.*, 2024).

La resistencia a los antimicrobianos se ha consolidado como uno de los principales desafíos para la salud pública global. Se estima que actualmente provoca aproximadamente 700,000 muertes al año, y la Organización Mundial de la Salud (OMS) proyecta que, de no tomarse medidas efectivas, esta cifra podría aumentar hasta alcanzar los 10 millones de muertes anuales para el año 2050 (Adhyaru *et al.*, 2024).

Dentro de este contexto, destaca *K. pneumoniae* como uno de los patógenos más relevantes en infecciones urinarias, especialmente en cepas productoras de carbapenemasa (KPC), que hidrolizan una amplia gama de β -lactámicos, incluidos los carbapenémicos, antibióticos de último recurso.

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la producción de carbapenemasas y β -lactamasas tipo AmpC en cepas de *K. pneumoniae* aisladas de muestras de orina de pacientes con ITU recurrentes.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aplicar el método de inactivación de carbapenémicos modificado (mCIM) para la detección fenotípica de carbapenemasas en las cepas aisladas.
- Emplear el método inactivación de carbapenémicos modificado con EDTA (eCIM) para diferenciar entre carbapenemasas metalo-dependientes y serina-carbapenemasas.
- Detectar la presencia de β -lactamasas tipo AmpC utilizando la prueba de difusión combinada en disco.

JUSTIFICACIÓN

A pesar de que la resistencia antimicrobiana puede deberse a múltiples mecanismos de evasión, Rahmat *et al.*, (2024) destacan que el incremento de cepas de *K. pneumoniae* productoras de β -lactamasas de espectro extendido (ESBL), carbapenemasas tipo KPC y metalo- β -lactamasas (MBL) se ha convertido en una preocupación urgente en el ámbito clínico.

Los resultados de este trabajo podrían contribuir a la toma de decisiones clínicas más eficaces mediante el diseño de terapias antimicrobianas dirigidas, así como al fortalecimiento de la vigilancia epidemiológica. Esto permitirá establecer estrategias para la identificación temprana de estos microorganismos, facilitando un manejo clínico adecuado y el desarrollo de contramedidas que ayuden a contener y prevenir la propagación de estas amenazas.

MARCO TEÓRICO

1. Características morfológicas y bioquímicas de *K. pneumoniae*

Es una bacteria en forma de bastón, inmóvil y no formadora de esporas, que varía de 0.3 a 2.0 µm de ancho y de 0.6 a 6.0 µm de largo, con una apariencia mucóide distintiva en placas de agar.

Como anaerobio facultativo, está adaptada para prosperar en entornos tanto aeróbicos como anaeróbicos. Bioquímicamente fermenta lactosa, es catalasa positiva y citocromo oxidasa negativa (Abbas *et al.*, 2024).

2. Factores de virulencia

Una característica distintiva es su morfología encapsulada que encierra la estructura celular y actúa como un escudo contra la inmunidad innata del huésped. Se sabe que las cápsulas promueven la evasión inmunológica al obstaculizar la eliminación del huésped a través de la fagocitosis e imitar antigénicamente los glicanos del huésped. La producción de cápsulas está controlada por un solo locus de polisacárido de cápsula (cps), que alberga varios genes. Hasta la fecha, se sabe que *K. pneumoniae* produce al menos 79 tipos de cápsulas, que se diferencian entre sí por la estructura y los componentes de la unidad de polisacárido repetida en el polisacárido capsular. A diferencia de *K. pneumoniae* clásica (cKp), las cepas de *K. pneumoniae* hipervirulentas (hvKp) pueden producir hipercápsulas a través de varios genes de virulencia específicos, como c-rmpA, c-rmpA2, p-rmpA, p-rmpA2 y wzy-K1. Este fenotipo se encuentra notablemente en los serotipos K1 y K2 y está vinculado a la hipervirulencia. Como bacterias Gram negativas, tanto las cKp como las cepas hipervirulentas hvKp tienen lipopolisacáridos (LPS) en su membrana externa, también denominados endotoxinas. Los LPS están compuestos por lípido A, un oligosacárido central y antígenos O que actúan como capa protectora contra la muerte mediada por el complemento. Hasta la fecha, existen al menos 8 serotipos de antígeno O en *K. pneumoniae*, siendo el antígeno O1 el más común entre las cepas clínicas. Además, dos tipos de fimbrias están muy extendidas en las cepas de *K. pneumoniae*: las fimbrias de tipo 1 y 3, que están codificadas por los operones fim y mrkABCD, respectivamente, y ayudan en la adhesión bacteriana y la invasión de células huésped y la formación de biopelículas (Abbas *et al.*, 2024).

3. Relevancia clínica

Según lo expuesto por Abbas *et al.*, (2024) tradicionalmente, *K. pneumoniae* ha sido una causa común de bacteriemia, neumonía e infecciones urinarias en individuos inmunodeprimidos. Es la principal causa de neumonía nosocomial y puede causar neumonía primaria, de hecho, otro aspecto infeccioso es su biopelícula, que puede desarrollarse en equipos médicos (catéteres y tubos endotraqueales), causando una fuente de infección sustancial en pacientes cateterizados. Por otro lado, los mismos autores resaltan que recientemente, ha emergido una cepa hvKp que afecta tanto a individuos sanos como inmunodeprimidos, con altas tasas de patogenicidad y mortalidad. La principal manifestación clínica en individuos sanos es el absceso hepático, aunque también puede causar neumonía, meningitis y endoftalmitis. A diferencia de la cepa

clásica (cKP), hvKp puede diseminarse metastásicamente. Algunas cepas hvKp han desarrollado resistencia antibiótica, produciendo carbapenemasas y β -lactamasas de espectro extendido (ESBL).

Asimismo, Fararjeh *et al.* (2024) señalan que *K. pneumoniae* puede causar además de infecciones del tracto urinario y neumonía, septicemia frecuentemente complicada por asma, infecciones del tracto respiratorio superior, fibrosis quística o síndrome pulmonar obstructivo crónico.

4. *K. pneumoniae* y su resistencia a los carbapenémicos

Los carbapenémicos son una clase de antibióticos β -lactámicos que inhiben la síntesis de la pared celular, y suelen ser empleados como última opción en el tratamiento de infecciones graves causadas por bacilos Gram negativos resistentes a múltiples fármacos (Chen *et al.* 2024). De acuerdo con Mó *et al.* (2024), los carbapenémicos al igual que otros antibióticos β -lactámicos, actúan inhibiendo la síntesis del peptidoglicano de la pared celular bacteriana. Esto ocurre a través de la unión irreversible del β -lactámico a las proteínas de unión a la penicilina (PBP) en el sitio activo de la transpeptidasa, donde normalmente se unirían los residuos terminales de aminoácidos, esta unión interfiere con la síntesis del peptidoglicano, debilitando la pared celular y provocando la lisis osmótica y la muerte celular bacteriana.

La resistencia a los antibióticos β -lactámicos se puede lograr mediante la producción de enzimas hidrolizadoras de β -lactámicos, alteraciones en los objetivos farmacológicos o mediante la expulsión activa de los antibióticos a través de bombas de eflujo. Por ejemplo, Rahmat *et al.* (2024), señalan que las dos porinas principales en *K. pneumoniae*, OmpK35 y OmpK36, facilitan la difusión pasiva de pequeñas moléculas hidrófilas, incluidos antibióticos clínicamente relevantes. Sin embargo, mutaciones puntuales o interrupciones insercionales en las secuencias codificantes o en las regiones promotoras pueden modificar la expresión de estas porinas en aislados clínicos de *K. pneumoniae*, como resultado, las cepas que carecen de OmpK35 y OmpK36 han mostrado niveles elevados de resistencia.

Centrándose en el mecanismo de resistencia mediado por enzimas, Bush y Jacoby (2010), señalan que la producción de β -lactamasas suele ser el principal mecanismo sospechado cuando un aislamiento bacteriano Gram negativo presenta resistencia frente antibióticos β -lactámicos.

5. Clasificación de carbapenemasas

Existen dos sistemas de clasificación para las β -lactamasas: la clasificación molecular de Ambler (1980) y la funcional de Bush *et al.* (2005), (Tabla 1).

La clasificación de Ambler (1980) comprende cuatro clases de β -lactamasas, que son A, B, C y D. Las carbapenemasas que pertenecen a las clases A y D se consideran serina- β -lactamasas porque tienen un residuo de serina en su centro activo, hidrolizando los antibióticos formando un intermediario covalente a través del grupo serina activo. En la clase B de Ambler, las metalo- β -carbapenemasas pueden hidrolizar β -lactámicos debido a su actividad catalítica,

proporcionada por la presencia de uno o más iones de zinc en el sitio activo y son inhibidas por quelantes metálicos como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (Mó *et al.*, 2024).

Por otro lado, Bush *et al.* (1995) propusieron un esquema de clasificación, el cual incluye cefalosporinas del grupo 1 (clase C); grupo 2 (clases A y D) β -lactamasas y serina carbapenemasas de amplio espectro, resistentes a los inhibidores y de espectro extendido; y metalo- β -lactamasas del grupo 3.

1. Carbapenemasas de clase A

Esta clase de serina carbapenemasas puede hidrolizar un amplio espectro de β -lactámicos, incluidos carbapenémicos, penicilinas, cefalosporinas y aztreonam, pero es inhibida por el ácido clavulánico y el tazobactam. La β -lactamasa hidrolizadora de imipenem (IMI-1), la carbapenemasa-A (NMC-A), la enzima *Serratia marcescens* (SME) y la carbapenemasa *Serratia fonticola* (SFC) están codificadas cromosómicamente. Las enzimas codificadas por plásmidos son *K. pneumoniae*, carbapenemasas (KPC) y Guayana de espectro extendido (GES). Entre todas las enzimas de clase A, es relevante destacar las KPCs, descritas inicialmente en *K. pneumoniae* en 1996 y distribuidas por todo el mundo, con actividad hidrolítica sobre todos los β -lactámicos. Los KPC tienen el potencial de propagarse entre los patógenos humanos principalmente a través de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* (Mó *et al.*, 2024).

2. Carbapenemasas de clase B

Las carbapenemasas de clase B, clasificadas como metalo- β -lactamasas (MBL), se caracterizan por su capacidad para hidrolizar la mayoría de los antibióticos β -lactámicos, excepto el aztreonam. Pueden ser inhibidos por agentes quelantes como el EDTA y el ácido dipicolínico (DPA), pero su actividad puede reconstituirse con la adición posterior de zinc.

De acuerdo con la necesidad de que una o dos moléculas de zinc tengan actividad catalítica, los MBL se han dividido en dos subclases: B1 y B3 necesitan dos iones de zinc, mientras que la subclase B2 solo necesita un ion en su sitio activo. Considerando las tres subclases, B1 es actualmente de mayor relevancia clínica, en parte porque se asocia con plásmidos móviles que facilitan la transferencia de genes de resistencia entre bacterias, principalmente a través de *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.* Y *Enterobacteriaceae*. Las más prevalentes son la imipenemasa (IMP), la metalo- β -lactamasa codificada por integrones de Verona (VIM) y la metalo- β -lactamasa de Nueva Delhi (NDM). Se han reportado casos de otros MBL, como la imipenemasa alemana (GIM) y la metalo- β -lactamasa de São Paulo (SPM). Estas familias de enzimas tienen sus genes codificados en una variedad de estructuras de integrones, generalmente ubicadas en plásmidos conjugativos, lo que facilita su diseminación. Los IMPs y VIMs se asocian principalmente con *P. aeruginosa* y los NDMs con *K. pneumoniae* (Mó *et al.*, 2024).

3. Carbapenemasas de clase D

Las carbapenemasas de clase D se caracterizaron inicialmente como oxacilinas porque poseían actividad hidrolítica para la oxacilina, lo que les dio la clasificación de carbapenemasas hidrolizadoras de oxacilina (OXAs). Esta clase de enzimas generalmente no es inhibida por el ácido clavulánico, EDTA, tazobactam o sulbactam, y muchas de ellas hidrolizan carbapenémicos con diferente eficiencia. La eficacia de su actividad hidrolítica contra los carbapenémicos es diversa y, a veces, difícil de derrotar, pero su producción funciona en acción sinérgica con otros mecanismos de resistencia. Estas enzimas se pueden diferenciar de acuerdo con su espectro de acción en tres grupos, uno de los cuales es para OXAs con actividad hidrolítica sobre los carbapenémicos, a saber, las β -lactamasas (CHDL) de clase D hidrolizantes de carbapenémicos. La CHDL más prevalente es la OXA-48, con su primer caso reportado en Turquía en 2001 en un aislado de *K. pneumoniae* (Mó et al., 2024).

Sin embargo, según Bush & Jacoby (2010), la clasificación funcional permite establecer una relación más directa con su papel clínico, ya que refleja su capacidad para conferir resistencia específica frente a distintas clases de antibióticos β -lactámicos.

- **Grupo 1:** cefalosporinasas de clase C, más activas contra cefalosporinas que contra penicilinas y resistentes a inhibidores como el ácido clavulánico.
- **Grupo 2:** β -lactamasas de clases A y D, que incluyen penicilinasas, β -lactamasas de espectro extendido (ESBLs) y carbapenemasas serina.
- **Grupo 3:** metalo- β -lactamasas (MBLs) de clase B, que requieren zinc y son inhibidas por agentes quelantes de metales como EDTA (Bush & Jacoby, 2010).

Grupo 1. Cefalosporinasas (Clase C)

Estas enzimas, presentes en muchas Enterobacterias hidrolizan principalmente cefalosporinas y algunos derivados de penicilina. Son resistentes a la inhibición por ácido clavulánico y tienen una actividad limitada contra carbapenémicos y monobactámicos. Pueden ser inducidas por β -lactámicos como amoxicilina o imipenem, y su producción elevada puede conferir resistencia a carbapenémicos, especialmente ertapenem. Son las β -lactamasas predominantes en cocos Gram positivos, incluidos los estafilococos y ocasionalmente los enterococos. Se conocen desde 1989 algunas enzimas del grupo 1 mediadas por plásmidos, pertenecientes a las familias CMY, ACT, DHA, FOX, MIR, entre otras. En su subgrupo 1e, las enzimas muestran mayor actividad contra cefalosporinas de espectro extendido debido a mutaciones (Bush & Jacoby, 2010).

Grupo 2. β -lactamasas con serina en el sitio activo (Clase A y D)

- **Subgrupo 2a:** penicilinasas presentes en estafilococos, con un espectro limitado.
- **Subgrupo 2b:** β -lactamasas que hidrolizan penicilinas y cefalosporinas tempranas, como TEM-1 y SHV-1. Son inhibidas por ácido clavulánico y tazobactam.

- **Subgrupo 2be (ESBLs):** enzimas de espectro extendido que hidrolizan oxiiimino- β -lactámicos como cefotaxima y ceftazidima. Las ESBLs incluyen las variantes TEM, SHV y CTX-M, algunas de las cuales están asociadas con resistencia a tazobactam. Son sensibles al ácido clavulánico.
- **Subgrupo 2br:** β -lactamasas de amplio espectro con resistencia al ácido clavulánico. Incluyen TEM-30 y SHV-10.
- **Subgrupo 2f:** carbapenemasas de serina que se asocian con brotes de infecciones multirresistentes, como KPC y GES, y son resistentes a los carbapenémicos.
- **Subgrupo 2d y 2e:** enzimas OXA, algunas con actividad frente a carbapenémicos. Se encuentran principalmente en *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* (Bush & Jacoby, 2010).

Grupo 3. Metallo- β -lactamasas (MBLs, clase B)

Estas β -lactamasas requieren iones zinc en su sitio activo para su actividad. No son inhibidas por ácido clavulánico ni tazobactam, pero sí por quelantes de metales como EDTA. Se subdividen en:

- **Subgrupo 3a:** MBLs como IMP y VIM, comunes en bacterias no fermentadoras y Enterobacteriaceae. hidrolizan penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos.
- **Subgrupo 3b:** MBLs que hidrolizan preferentemente carbapenémicos, con poca actividad frente a penicilinas y cefalosporinas (Bush & Jacoby, 2010).

TABLE 1. Classification schemes for bacterial β -lactamases, expanded from Bush et al. (16)

Bush-Jacoby group (2009)	Bush-Jacoby-Medeiros group (1995)	Molecular class (subclass)	Distinctive substrate(s)	Inhibited by		Defining characteristic(s)	Representative enzyme(s)
				CA or TZB ^a	EDTA		
1	1	C	Cephalosporins	No	No	Greater hydrolysis of cephalosporins than benzylpenicillin; hydrolyzes cephamycins	<i>E. coli</i> AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	NI ^b	C	Cephalosporins	No	No	Increased hydrolysis of ceftazidime and often other oxyimino- β -lactams	GC1, CMY-37
2a	2a	A	Penicillins	Yes	No	Greater hydrolysis of benzylpenicillin than cephalosporins	PC1
2b	2b	A	Penicillins, early cephalosporins	Yes	No	Similar hydrolysis of benzylpenicillin and cephalosporins	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	2be	A	Extended-spectrum cephalosporins, monobactams	Yes	No	Increased hydrolysis of oxyimino- β -lactams (cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, cefepime, aztreonam)	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	2br	A	Penicillins	No	No	Resistance to clavulanic acid, subactam, and tazobactam	TEM-30, SHV-10
2ber	NI	A	Extended-spectrum cephalosporins, monobactams	No	No	Increased hydrolysis of oxyimino- β -lactams combined with resistance to clavulanic acid, subactam, and tazobactam	TEM-50
2c	2c	A	Carbenicillin	Yes	No	Increased hydrolysis of carbenicillin	PSE-1, CARB-3
2ce	NI	A	Carbenicillin, cefepime	Yes	No	Increased hydrolysis of carbenicillin, cefepime, and cefpirome	RTG-4
2d	2d	D	Cloxacillin	Variable	No	Increased hydrolysis of cloxacillin or oxacillin	OXA-1, OXA-10
2de	NI	D	Extended-spectrum cephalosporins	Variable	No	Hydrolyzes cloxacillin or oxacillin and oxyimino- β -lactams	OXA-11, OXA-15
2df	NI	D	Carbapenems	Variable	No	Hydrolyzes cloxacillin or oxacillin and carbapenems	OXA-23, OXA-48
2e	2e	A	Extended-spectrum cephalosporins	Yes	No	Hydrolyzes cephalosporins. Inhibited by clavulanic acid but not aztreonam	CepA
2f	2f	A	Carbapenems	Variable	No	Increased hydrolysis of carbapenems, oxyimino- β -lactams, cephamycins	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	3	B (B1)	Carbapenems	No	Yes	Broad-spectrum hydrolysis including carbapenems but not monobactams	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1
		B (B3)					L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1
3b	3	B (B2)	Carbapenems	No	Yes	Preferential hydrolysis of carbapenems	CphA, Sfh-1
NI	4	Unknown					

^a CA, clavulanic acid; TZB, tazobactam.

^b NI, not included.

Fuente: Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010).

6. Tratamientos actuales y alternativas para *K. pneumoniae* resistente a carbapenémicos

Las opciones de tratamiento para las infecciones por *K. pneumoniae* resistente a carbapenémicos (CRKP) son relativamente limitadas. La colistina se ha utilizado para tratar infecciones intraabdominales (IAI), infecciones del torrente sanguíneo (BSI), neumonía asociada a ventilación mecánica (VAP) e infecciones del tracto urinario (UTI) debidas a CRKP y *K. pneumoniae* multirresistente. Además, la tigeciclina constituye otra alternativa. Presenta un amplio espectro de acción y se ha utilizado para el tratamiento de infecciones por CRKP alcanzando altas concentraciones en varios fluidos biológicos, así como en pulmones, piel, tejidos blandos y huesos. Sin embargo, debido a las crecientes tasas de resistencia a la colistina y la tigeciclina entre CRKP, recientemente se han lanzado nuevos agentes antimicrobianos. Ceftazidima-avibactam (CAZ-AVI) es un nuevo antimicrobiano que ha sido eficaz y seguro contra cepas de CRKP productoras de KPC y OXA-48. CAZ-AVI normalmente no es activo contra CRKP productor de MBL. Ha sido aprobado para el tratamiento de IAI complicadas (cIAI) (combinadas con metronidazol) e ITU complicadas (cUTI), así como para el tratamiento de neumonía adquirida en el hospital (HAP) y neumonía asociada al respirador (VAP). De manera general la selección de la mejor opción de tratamiento disponible para combatir las infecciones por CRKP suele ser controvertida (Karampatakis *et al.* 2024).

Avibactam, relebactam y vaborbactam son nuevos inhibidores de carbapenemasas aprobados clínicamente con actividad contra CRE. Los inhibidores recientemente aprobados son efectivos contra varias enzimas basadas en serina; sin embargo, no son efectivos contra MBL. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de buscar nuevos inhibidores de MBL (Abdel-Halim *et al.* 2024).

Abbas *et al.* (2019), establecen que, debido a la importancia de los carbapenémicos en la terapia de infecciones, la búsqueda de inhibidores de carbapenemasas ha ganado mucha importancia. Los inhibidores clásicos de β -lactamasa como tazobactam, sulbactam y clavulanato son inactivos contra las carbapenemasas KPC. Como resultado, los inhibidores de carbapenemasas más nuevos representan una necesidad urgente. Vaborbactam es un ejemplo de tales inhibidores que podrían inhibir las serinas carbapenemasas KPC, y se usa en combinación con meropenem. En el estudio, los autores indican que algunos agentes como ácido cítrico, ácido málico, ácido ascórbico y ciprofloxacino se usaron como inhibidores potenciales de MBL. El principio detrás de tales inhibidores fue la quelación potencial del cofactor de zinc de MBL debido a la actividad quelante de metales previamente informada para estos agentes.

Abdul *et al.* (2024), realizaron ensayos de difusión en pocillos de agar y evaluaron la concentración inhibitoria mínima (CIM) para validar el efecto sinérgico del polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP) contra especies de *Klebsiella*. Los valores de CIM de los compuestos antimicrobianos seleccionados demostraron un considerable impacto sinérgico cuando se combinaron con GIP humano, en particular contra las cepas de KPC. La actividad antibacteriana de los compuestos antimicrobianos se incrementó entre 4 y 16 veces debido al GIP humano, lo que redujo los valores de CIM. La concentración inhibitoria fraccional (CIF) varió de 0.032 a 0.25 para los antibióticos examinados. Por lo tanto, el GIP puede considerarse un adyuvante antibacteriano con el potencial de complementar el espectro antibiótico actual.

Sin embargo, también se han planteado alternativas naturales como la estudiada por Abdel-Halim *et al.* (2024), en donde establecen que la cumarina inhibió significativamente las carbapenemasas en el extracto periplásmico crudo de *K. pneumoniae* resistente a carbapenémicos (CRKP). El ensayo realizado indicó que la combinación cumarina-meropenem fue sinérgica y exhibió un índice de concentración inhibitoria fraccional ≤ 0.5 frente a las MBL de clase B (*bla_{VIM}* y *bla_{NDM}*) y las carbapenemasas de clase D (*bla_{OXA}*). Además, los resultados de qRT-PCR revelaron que la cumarina disminuyó significativamente la expresión de genes de carbapenemasas.

HIPÓTESIS

El 100% de las cepas de *K. pneumoniae* que se analizarán producen carbapenemasas y β -lactamasas tipo AmpC, lo que conlleva a una resistencia generalizada a los betalactámicos.

TIPO DE ESTUDIO

Descriptivo

DESCRIPCIÓN DEL ÁMBITO DE ESTUDIO

Se realizó en el laboratorio de patogenicidad bacteriana del Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG) Situado en Dr. Márquez No. 162, Col. Doctores, Delegación Cuauhtémoc; CDMX, C.P 06720.

VARIABLES

Al ser un estudio de tipo descriptivo se cuenta con variables de interés y de caracterización.

- **Variable de interés:** carbapenemasas
- **Variable de caracterización:** cepas de *K. pneumoniae*

MATERIALES Y MÉTODOS

Medios de cultivo:

- Agar sangre
- Agar Mueller-Hinton
- Caldo soya tripticasa (TSA)

Reactivos y soluciones:

- Solución de EDTA 0.5 M pH 8
- Solución salina estéril
- Ácido fenilborónico
- Dimetilsulfóxido

Cepas de control:

- *E. coli* ATCC® 25922
- *K. pneumoniae* ATCC® 13883

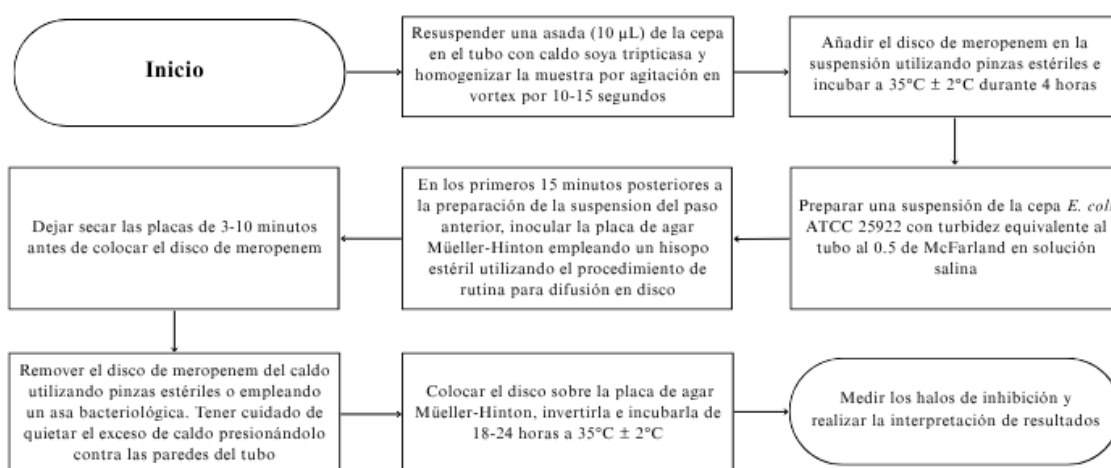
Equipo y consumibles:

- Balanza analítica
- Incubadora
- Vórtex
- Campana de flujo laminar
- Tubos de rosca de 13x1000
- Pinzas estériles
- Asa bacteriológica
- Regla o vernier
- Estandarizador de turbidez (0.5 McFarland)
- Hisopos estériles
- Micropipeta de 10-20 µl
- Cajas Petri
- Sensidiscos de meropenem (10 µg)
- Sensidiscos de cefoxitina (30 µg)

Se analizaron un total de 34 cepas de *K. pneumoniae* aisladas de pacientes con infecciones urinarias recurrentes, algunas de las cuales presentaron resistencia a cefalosporinas de tercera generación y/o meropenem. Con el objetivo de evaluar la presencia de enzimas implicadas en la resistencia a β -lactámicos, se realizaron ensayos fenotípicos, incluyendo mCIM/eCIM para la detección de carbapenemasas (véase Tabla 2) y la prueba de difusión con discos combinados de ácido fenilborónico (AFB) y ceftioxina (FOX) para la detección de β -lactamasas tipo AmpC (véase Tabla 3).

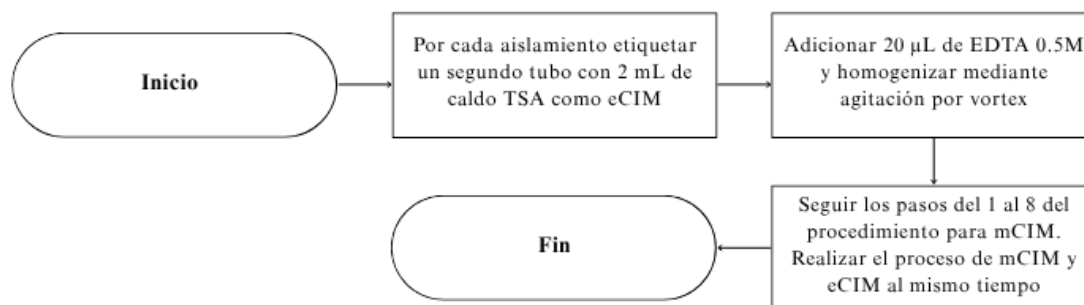
La metodología a seguir para diferenciar entre carbapenemasas metalo-dependientes y serina-carbapenemasas se basó en las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) de 2023.

Figura 1. Método de inactivación de carbapenémicos modificado (mCIM).



Fuente: Elaboración propia.

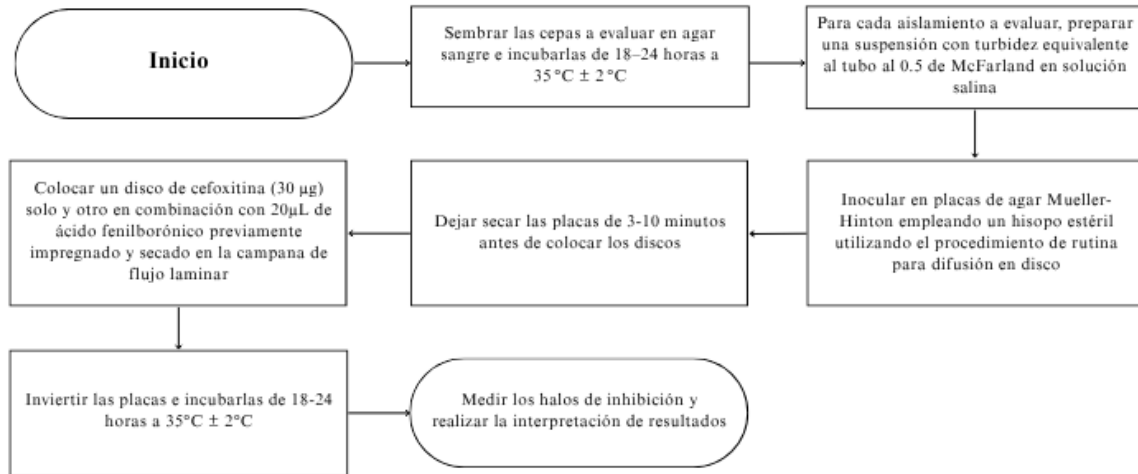
Figura 2. Método de inactivación de carbapenémicos modificado con EDTA (eCIM).



Fuente: Elaboración propia.

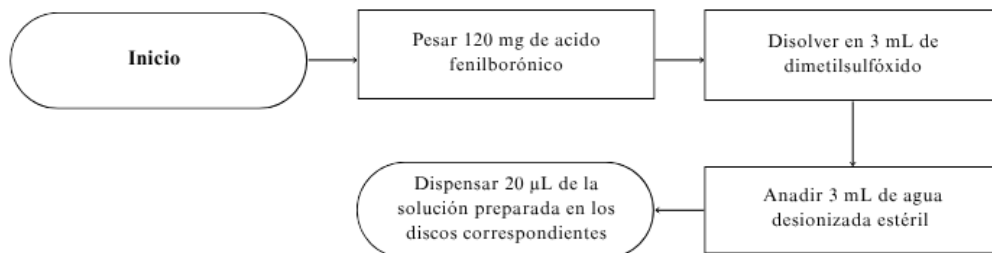
Dado que la identificación fenotípica de β -lactamasas tipo AmpC no está estandarizada, es decir no está descrita en las pautas del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) o algún otro manual, se optó por adoptar el método descrito por Manoharan *et al.*, (2012).

Figura 3. Prueba de difusión combinada en disco.



Fuente: Elaboración propia.

Para la preparación del ácido fenilborónico se siguió la metodología descrita por Martínez (2009), la cual se ilustra a continuación:



Fuente: Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Resultado mCIM	Interpretación	Reporte
<ul style="list-style-type: none"> Halo de inhibición de 6-15 mm Presencia de colonias pequeñas en la zona de 16-18mm 	Positivo	Cepa productora de carbapenemasas
<ul style="list-style-type: none"> Halo de inhibición ≥ 19mm (zona de inhibición clara sin ningún tipo de crecimiento) 	Negativo	Cepa no productora de carbapenemasas
Resultado eCIM	Interpretación	Reporte
<ul style="list-style-type: none"> Incremento ≥ 5mm en el halo de inhibición de eCIM en comparación de mCIM 	Positivo	Cepa productora de metalo β -lactamasas (MBL)
<ul style="list-style-type: none"> Incremento ≤ 4mm en el halo de inhibición de eCIM en comparación de mCIM 	Negativo	Cepa productora de carbapenemasa tipo serina (Clase A o D)
Resultado prueba de difusión combinada en disco	Interpretación	Reporte
<ul style="list-style-type: none"> Incremento ≥ 5 mm en el halo de inhibición en presencia de ácido fenilborónico en comparación con la cefoxitina sola 	Positivo	Cepa productora de de β -lactamasa AmpC
<ul style="list-style-type: none"> Incremento ≤ 4 mm en el halo de inhibición en presencia de ácido fenilborónico en comparación con la cefoxitina sola 	Negativo	Cepa no productora de de β -lactamasa AmpC

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 2. Evaluación de la producción de carbapenemasas en cepas de *K. pneumoniae* mediante los ensayos mCIM/eCIM.

Sensibilidad (MEM)	Clave de la cepa	Resultado mCIM	Diámetro (mm)	Resultado eCIM	Diámetro (mm)
R	RPM U1-1	Negativo	19	Negativo	19
R	RPM U1-2	Negativo	19	Negativo	19
R	RPM U1-3	Negativo	18	Negativo	18
S	RPM U5-1 a.p	Negativo	18	Negativo	18
S	RPM U5-1 p.	Negativo	18	Negativo	19
S	RPM U5-1 b.m	Negativo	18	Negativo	18
S	RPM U5 1 g.a.m	Negativo	18	Negativo	18
S	RPM U5-1 crema	Negativo	18	Negativo	19
S	RPM U5-2 p.a	Negativo	19	Negativo	19
S	RPM U3-4	Negativo	17	Negativo	18
S	RPM U5-4	Negativo	19	Negativo	19
S	GAA U9-7	Negativo	17	Negativo	17
S	GAA U10-8	Negativo	18	Negativo	18
S	GAA U16-6	Negativo	20	Negativo	20
R	JJ U1-1	Negativo	19	Negativo	19
R	JJ U1-2	Positivo	14	Negativo	17
R	JJ U1-3	Negativo	17	Negativo	19
S	IPL U4-1	Negativo	18	Negativo	18
S	IPL U4-2	Negativo	18	Negativo	18

S	IPL U4-3	Negativo	18	Negativo	18
S	SOO U3-1	Negativo	18	Negativo	20
S	SOO U3-2	Negativo	19	Negativo	19
S	SOO U3-2	Negativo	17	Negativo	17
S	EL U2-1	Negativo	17	Negativo	17
S	EL U2-2	Negativo	19	Negativo	19
S	EL U2-3	Negativo	17	Negativo	18
S	ITV U5-1	Negativo	19	Negativo	18
S	ITV U5-2	Negativo	19	Negativo	19
S	RHL U3-1	Negativo	19	Negativo	23
S	SGS U3-2	Positivo (presencia de colonias dentro del halo de inhibición)	16	Positivo	21
S	LGM U2-1	Negativo	17	Negativo	19
S	LGM U2-2	Negativo	17	Negativo	20
S	LGM U2-3	Negativo	19	Negativo	19
S	RMMV U11-1	Negativo	20	Negativo	20
-	<i>E. coli</i> ATCC 25922	Negativo	19	-	-
-	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	Positivo	15	-	-

mCIM: método de inactivación de carbapenémicos modificado, eCIM: método de inactivación de carbapenémicos modificado con EDTA, MEM: meropenem.

Tabla 3. Evaluación de la producción de β -lactamasas tipo AmpC en cepas de *K. pneumoniae* mediante la prueba de difusión combinada en disco.

Sensibilidad (FOX)	Clave de la cepa	Diámetro (mm) (FOX 30 μ g)	Diámetro (mm) (FOX 30 μ g + AFB 400 μ g)	Resultado
S	RPM U1-1	18	18	Negativo
S	RPM U1-2	18 (presencia de colonias dentro del halo)	22 (presencia de colonias dentro del halo)	Negativo
S	RPM U1-3	18	18	Negativo
S	RPM U5-1 a.p	17	17	Negativo
S	RPM U5-1 p.	21	23	Negativo
S	RPM U5-1 b.m	21	21	Negativo
S*	RPM U5 1 g.a.m	23	24	Negativo
S*	RPM U5-1 crema	24	25	Negativo
S*	RPM U5-2 p.a	15	15	Negativo
S	RPM U3-4	21 (presencia de colonias dentro del halo de inhibición)	24	Negativo
R	RPM U5-4	12	18	Positivo
S	GAA U9-7	22	22	Negativo
S	GAA U10-8	22	22	Negativo
S	GAA U16-6	20	23	Negativo
S	JJ U1-1	23	25	Negativo
S	JJ U1-2	22	23	Negativo
S	JJ U1-3	22	24	Negativo
S	IPL U4-1	24	24	Negativo
S	IPL U4-2	25	25	Negativo
S	IPL U4-3	24	25	Negativo
S	SOO U3-1	21	25	Negativo
S	SOO U3-2	21	25	Negativo
S	SOO U3-2	20 (presencia de colonias dentro del halo de inhibición)	24 (presencia de colonias dentro del halo de inhibición)	Negativo
S	EL U2-1	23	24	Negativo
S	EL U2-2	22	25	Negativo
S	EL U2-3	22	23	Negativo
S	ITV U5-1	20	22	Negativo

S	ITV U5-2	21	22	Negativo
I	RHL U3-1	20	20	Negativo
R	SGS U3-2	11	12	Negativo
S	LGM U2-1	21	21	Negativo
S	LGM U2-2	20	20	Negativo
S	LGM U2-3	19	21	Negativo
S	RMMV U11-1	20	22	Negativo

FOX: cefoxitina, AFB: ácido fenilborónico.

Tabla 4. Frecuencia de β -lactamasas detectadas en cepas de *K. pneumoniae*.

Tipo de enzima β -lactamasa detectada	Método de detección	Número de cepas	Porcentaje (%)
Carbapenemasa tipo MBL	mCIM positivo / eCIM positivo	1	2.9
Carbapenemasa tipo serina (Clase A o D)	mCIM positivo / eCIM negativo	1	2.9
AmpC	Difusión combinada en disco con FOX + ácido fenilborónico positivo	1	2.9
Negativas a carbapenemasas y AmpC	mCIM/eCIM negativos, difusión combinada en disco negativo	31	91.2%
Total de cepas evaluadas	—	34	100%

Como se observa en la tabla 4, de las 34 cepas evaluadas, únicamente 2/34 (5.8 %) producen carbapenemasas: una del tipo serina y otra metaloproteasa. Además, la prueba de difusión combinada en disco con FOX y AFB permitió identificar una β -lactamasa tipo AmpC en una cepa (2.9 %). El 91.2% restante (n=31) no presentó evidencia para la producción de estas enzimas mediante los métodos fenotípicos empleados. Lo anterior sugiere que la frecuencia tan baja de cepas productoras de carbapenemasas y β -lactamasas tipo AmpC en las muestras analizadas permitirá el uso de carbapenémicos como último recurso en el tratamiento de ITU asociadas a las cepas de *K. pneumoniae* analizadas. Sin embargo, estos resultados deben interpretarse con cautela ya que están influenciados por la heterogeneidad de los mecanismos de resistencia y las limitaciones inherentes a los métodos fenotípicos.

Según estudios previos, como los realizados para el informe del primer trimestre de 2024 de la Red Temática de Investigación y Vigilancia de la Farmacorresistencia (INVIFAR), se evaluaron un total de 8708 cepas bacterianas pertenecientes a distintas especies de Enterobacterias, recolectadas en 41 centros participantes distribuidos en todo México. De estas, cinco cepas clínicas de *K. pneumoniae* no sensibles a carbapenémicos fueron genotipificadas para la detección de genes de resistencia, identificándose el gen *bla_{KPC}* en el 40% de los casos (equivalente a dos cepas). En cuanto a los perfiles de resistencia antibiótica, *K. pneumoniae* presentó mayor resistencia a carbapenémicos en pacientes del grupo de edad de 18 a 59 años, con significancia estadística ($p = 0.017$), lo que sugiere una asociación relevante entre edad y resistencia. En el grupo pediátrico (0–17 años), se observó una mayor resistencia a ceftazidima (CAZ), ceftriaxona (CRO) y trimetoprim-sulfametoxazol (SXT), siendo esta última también estadísticamente significativa ($p = 0.041$). Respecto al sitio de aislamiento, los aislados clínicos de sangre mostraron una alta frecuencia de resistencia a carbapenémicos ($p < 0.05$) y a cefepima (FEP) ($p < 0.001$). Además, en pacientes hospitalizados en unidades de cuidados intensivos (UCI), se observó una mayor resistencia al ertapenem (ETP), también con significancia estadística ($p < 0.035$). En términos de producción enzimática, *K. pneumoniae* mostró niveles elevados de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE). En particular, 60.4% en muestras del

tracto respiratorio inferior fueron productoras de BLEE, 60.4% en muestras del tracto respiratorio inferior, 52.3% en los aislados sanguíneos, 50% en biopsias, abscesos y aspirados y 47.2% en orina. En estas últimas, además, el 0.8% presentó resistencia a meropenem (MEM), el 29.2% a nitrofurantoína (NIT) y el 29.6% a norfloxacino (NOR) (Colín-Castro *et al.*, 2025).

En otra investigación también de INVIFAR se recolectaron aislados clínicos de 28 centros (26 laboratorios de microbiología de centros hospitalarios y 2 externos) en México. Su objetivo fue determinar las características genómicas y la epidemiología molecular de varias enterobacterias entre ellas *K. pneumoniae* no sensibles a los carbapenémicos utilizando datos de secuenciación del genoma completo con plataformas bioinformáticas. Se analizaron 22 aislamientos clínicos de *K. pneumoniae* mediante secuenciación del genoma completo utilizando la plataforma Illumina (MiSeq) y herramientas bioinformáticas como EPISEQ® CS, Kleborate v2.0.4 y Pathogenwatch. Los resultados mostraron la presencia de múltiples genes de resistencia a aminoglucósidos, quinolonas y fenicoles. En particular, para esta especie se identificaron los genes *bla_{NDM-1}* en 18 cepas y *bla_{KPC-3}* en 4, responsables de la no susceptibilidad a carbapenémicos. En términos de concentración inhibitoria mínima (CIM), todos los aislados de esta mostraron CIM ≥ 32 $\mu\text{g/mL}$ para ampicilina-sulbactam, ≥ 64 para ceftazidima y ceftriaxona, y ≥ 8 para doripenem. El rango de CIM fue de 2 a ≥ 64 para cefepima, de 4 a ≥ 8 para ertapenem, y de 8 a ≥ 16 para imipenem y meropenem, lo que evidencia un perfil de multirresistencia en estos aislamientos (Garza-Ramos *et al.*, 2023).

Adicionalmente, de acuerdo con lo reportado por Rojas-Larios *et al.* (2023), en el marco de la Red INVIFAR en donde participaron 43 centros de salud en 18 estados de México (34 laboratorios de microbiología de centros hospitalarios y 9 ambulatorios) y se incluyeron datos de resistencia antimicrobiana (RAM) de *K. pneumoniae* obtenidos de muestras de orina, respiratorias y sangre, recolectadas entre el 1 de enero y el 31 de marzo de 2023. Señalan que, en *K. pneumoniae*, la mayor frecuencia de resistencia a carbapenémicos se detectó en el 20.8 % de los aislamientos de pacientes hospitalizados en la unidad de cuidados intensivos (UCI). Estos aislamientos mostraron una resistencia significativamente mayor a SAM, TZP, CAZ, CRO, CTX, FEP, ETP, IPM, MEM, AMK y SXT ($p < 0.01$) en comparación con otros grupos. Además, los aislamientos del grupo pediátrico (0–18 años) presentaron mayor resistencia a SAM, CXM, CAZ, CRO, CTX, FEP, AMK, GEN y SXT ($p = 0.01$), así como a ETP e IPM ($p = 0.05$). Las cepas de *K. pneumoniae* aisladas de muestras de sangre mostraron mayor resistencia a CAZ, FEP, ETP, MEM y AMK ($p = 0.01$), así como a CXM, CRO e IPM ($p = 0.05$), en comparación con otros tipos de muestras. Respecto a los mecanismos genéticos de resistencia, el gen codificador de carbapenemasas más frecuente en *K. pneumoniae* fue *bla_{NDM}* (50 %, 22/44), seguido por *bla_{KPC}* (27.3 %, 12/44).

Finalmente, Garza-González *et al.*, (2021), evaluaron la resistencia antimicrobiana en enterobacterias, incluidas *K. pneumoniae*, a partir de muestras clínicas recolectadas entre 1 de enero y 31 de marzo de 2020 en 52 centros de México. Este estudio, de igual forma realizado en el marco de la Red Temática de Investigación y Vigilancia de la Farmacorresistencia (INVIFAR), empleó la plataforma WHONET 5.6, así como técnicas fenotípicas y moleculares para la detección de genes de resistencia. En *K. pneumoniae*, se detectaron los genes *bla_{TEM}*

(68.79%), *bla_{SHV}* (72.3%) y *bla_{CTX-M}* (91.9%). De 215 cepas seleccionadas, el 80.5% fueron confirmadas como productoras de BLEE. Las variantes más comunes fueron *bla_{CTX-M-15}* y *bla_{CTX-M-55}*. También se encontró una gran diversidad de alelos *bla_{SHV}*, algunos sin actividad BLEE. Respecto a las carbapenemasas en esta misma especie el gen *bla_{NDM-1}* fue el más prevalente (81.5%), seguido de *bla_{OXA-232}* y *bla_{OXA-181}*. Una cepa de *K. pneumoniae* presentó simultáneamente los genes *bla_{KPC}* y *bla_{NDM-1}*, lo que resalta la complejidad de la resistencia en estos patógenos.

La relevancia de los estudios revisados realizados en el marco de la Red Temática de Investigación y Vigilancia de la Farmacorresistencia (INVIFAR) han evidenciado patrones consistentes de resistencia antimicrobiana en *K. pneumoniae* en México durante el periodo comprendido entre el 2020-2025. En estos, se reporta una alta frecuencia de resistencia a carbapenémicos, particularmente en pacientes hospitalizados en unidades de cuidados intensivos (UCI) y en aislamientos obtenidos de muestras sanguíneas. Asimismo, los cuatro estudios coinciden en una elevada resistencia de *K. pneumoniae* tanto a carbapenémicos (ertapenem, imipenem, meropenem, doripenem) como a cefalosporinas de tercera y cuarta generación (ceftazidima, ceftriaxona, cefepima), acompañada por la detección consistente de genes codificantes de carbapenemasas (*bla_{NDM}*, *bla_{KPC}*) y β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) (*bla_{CTX-M}*, *bla_{SHV}* y *bla_{TEM}*). Esta concordancia genotípica se refleja en un perfil fenotípico de multirresistencia, caracterizado por concentraciones inhibitorias mínimas elevadas para múltiples antibióticos β -lactámicos.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos mediante los ensayos fenotípicos realizados en 34 cepas de *K. pneumoniae* aisladas de pacientes con ITU recurrente, evidencian una baja frecuencia de cepas productoras de carbapenemasas y β -lactamasas tipo AmpC, lo que permitirá el uso de carbapenémicos como último recurso en el tratamiento de ITU asociadas a cepas de *K. pneumoniae*.

La hipótesis se rechaza, ya que no se identificó la producción de carbapenemasas y β -lactamasas tipo AmpC en el 100% de las cepas evaluadas como se planteó que sucedería. Sin embargo, debe de considerarse que los métodos fenotípicos si bien son herramientas valiosas, presentan limitaciones en cuanto a sensibilidad, lo cual resalta la necesidad de integrar técnicas moleculares para una caracterización más precisa, como PCR multiplex o análisis de microarreglos, que permitan la detección específica de los genes más comúnmente responsables de los mecanismos de resistencia, tales como *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX}*, entre otros.

Los resultados contrastan con la elevada prevalencia de genes codificantes de enzimas de resistencia reportadas en *K. pneumoniae* por la Red INVIFAR en México en el periodo de 2020 al 2025. Esta discrepancia podría explicarse por diversos factores, entre ellos las diferencias en las poblaciones de las que provienen las muestras analizadas como lo es el grupo etario y el entorno clínico del paciente, dado que, por ejemplo, los estudios de INVIFAR identificaron

una mayor frecuencia de *K. pneumoniae* multirresistente en pacientes hospitalizados en UCI. Asimismo, el tipo de muestra biológica también puede representar una fuente de variación, ya que en el presente estudio los aislamientos provienen exclusivamente de muestras de orina, mientras que INVIFAR considera múltiples tipos de muestras, siendo las de sangre aquellas en las que se ha reportado con mayor frecuencia la presencia de carbapenemasas de clase B y clase A (grupos 2f y 2be) en *K. pneumoniae*.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Abbas, H. A., Kadry, A. A., Shaker, G. H., & Goda, R. M. (2019). Impact of specific inhibitors on metallo- β -carbapenemasas detected in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Microbial Pathogenesis*, *132*, 266-274. <https://doi.uam.elogim.com/10.1016/j.micpath.2019.05.022>
- [2] Abbas, R., Chakkour, M., Zein El Dine, H., Obaseki, E. F., Obeid, S. T., Jezzini, A., Ghssein, G., & Ezzeddine, Z. (2024). General Overview of *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology and the Role of Siderophores in Its Pathogenicity. *Biology*, *13*(2), 78. <https://doi.org/10.3390/biology13020078>
- [3] Abdel-Halim, M. S., El-Ganiny, A. M., Mansour, B., Yahya, G., Latif, H. K. A. E., & Askoura, M. (2024). Phenotypic, molecular, and in silico characterization of coumarin as carbapenemase inhibitor to fight carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *BMC microbiology*, *24*(1), 67. <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03214-7>
- [4] Adhyaru, J., Mangroliya, D. B., Bhalu, A. B., Kabariya, J. H., & Ramani, V. M. (2024). Genomic insights into prevalence of virulence and multi-drug resistance genes in milk-borne *Klebsiella pneumoniae*: Face of emerging resistance to last resort antibiotics. *Microbial Pathogenesis*, *196*, 106936. <https://doi.uam.elogim.com/10.1016/j.micpath.2024.106936>
- [5] Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *54*(3), 969–976. <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
- [6] Chen, L., Zhang, T., & Liu, Z. (2024). Molecular epidemiology and risk factors for carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections during 2020-2021 in Northwest China. *Microbial Pathogenesis*, *106*, 106728. <https://doi.uam.elogim.com/10.1016/j.micpath.2024.106728>
- [7] Colín-Castro CA, López-Jácome LE, Rodríguez-García MJ, Garibaldi-Rojas M, Rojas-Larios F, et al. (2025) The ongoing antibiotic resistance and carbapenemase encoding genotypes surveillance. The first quarter report of the INVIFAR network for 2024. *PLOS ONE* *20*(4): e0319441. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0319441>
- [8] Fararjeh, A., Jaradat, D. M. M., Al-Karablieh, N., Al-Fawares, O., Obeidat, A. I. M., Bashabsheh, R. H. F., & Al-Khreshieh, R. O. (2024). Evaluation of synergism effect of human glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) on *Klebsiella pneumoniae* carbapenemas (KPC) producer isolated from clinical samples. *Microbial Pathogenesis*, *194*, 106823. <https://doi.uam.elogim.com/10.1016/j.micpath.2024.106823>
- [9] Garza-González E, Bocanegra-Ibarias P, Bobadilla-del-Valle M, Ponce-de-León-Garduño LA, Esteban-Kenel V, et al. (2021) Drug resistance phenotypes and genotypes in Mexico in representative

gram-negative species: Results from the infivar network. PLOS ONE 16(3): e0248614. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248614>

[10] Garza-Ramos, U., Rodríguez-Medina, N., Córdova-Fletes, C., Rubio-Mendoza, D., Alonso-Hernández, C. J., López-Jácome, L. E., Morfín-Otero, R., Rodríguez-Noriega, E., Rojas-Larios, F., Vázquez-Larios, M. R., Ponce-de-León, A., Choy-Chang, E. V., Franco-Cendejas, R., Martínez-Guerra, B. A., Morales-de-La-Peña, C. T., Mena-Ramírez, J. P., López-Gutiérrez, E., García-Romo, R., Ballesteros-Silva, B., Valadez-Quiroz, A., & Garza-González, E. (2023). Análisis del genoma completo de bacterias gramnegativas utilizando la aplicación EPISEQ CS y otras plataformas bioinformáticas. *Revista de Resistencia Global a los Antimicrobianos*, 33, 61-71. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2023.02.026>

[11] “Infecciones De Las Vias Urinarias.” 2024. *Pharmaceutical Letter* 26 (13): 1–8. <https://researchs.uam.elogim.com/linkprocessor/plink?id=6326eba4-efa5-3ec2-9354-cf7afa3b6f54>.

[12] Karampatakis, T., Tsergouli, K., & Lowrie, K. (2023). Efficacy and safety of ceftazidime-avibactam compared to other antimicrobials for the treatment of infections caused by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains, a systematic review and meta-analysis. *Microbial Pathogenesis*, 179, 106090. <https://doi.uam.elogim.com/10.1016/j.micpath.2023.106090>

[13] Liu, X., Liu, Y., Ma, X., Chen, R., Li, C., Fu, H., Yang, Y., Guo, K., Zhang, X., Liu, R., Xu, H., Zhu, J., & Zheng, B. (2024). Emergence of plasmid-borne tet(X4) resistance gene in clinical isolate of eravacycline- and omadacycline-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST485. *Microbiology Spectrum*, 12(9). <https://doi.org/10.1128/spectrum.00496-24>

[14] Manoharan, A., Sugumar, M., Kumar, A., José, H., Mathai, D., Khilnani, G. C., Kapil, A., Francis, G., Radhakrishnan, K., Dutta, T. K., Parija, S. C., Narang, R., Mendiratta, D. K., Deotale, V., Baronia, A. K., & Prasad, K. N. (2012). Caracterización fenotípica y molecular de las β -lactamasas AmpC entre *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. y *Enterobacter* spp. de cinco Centros Médicos de la India. *Revista india de investigación médica*, 135(3), 359–364.

[15] Martínez, D. (2009). Betalactamasas tipo AmpC: generalidades y métodos para detección fenotípica. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 29, 78–83.

[16] Mó, I., & da Silva, G. J. (2024). Abordar la resistencia a los carbapenémicos y el imperativo de las estrategias de una sola salud: perspectivas desde la perspectiva portuguesa. *Antibióticos*, 13(6), 557. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13060557>

[17] Morocho Marín, G. M., & Gerardo Ortiz, J. (2024). Resistencia antimicrobiana de Enterobacterias causante de infección del tracto urinario en pacientes ambulatorios. *Revista de Investigación En Salud VIVE*, 7(19), 73–84. <https://doi.org/10.33996/revistavive.v7i19.284>

[18] Rahmat Ullah, S., Irum, S., Mahnoor, I., Ismatullah, H., Mumtaz, M., Andleeb, S., Rahman, A., & Jamal, M. (2024). Exploring the resistome, virulome, and mobilome of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates: deciphering the molecular basis of carbapenem resistance. *BMC genomics*, 25(1), 408.

[19] Rojas-Larios, F., Martínez-Guerra, B. A., López-Jácome, L. E., Bolado-Martínez, E., Vázquez-Larios, M. d. R., Velázquez-Acosta, M. d. C., Romero-Romero, D., Mireles-Dávalos, C. D., Quintana-Ponce, S., Feliciano-Guzmán, J. M., Pérez-Hernández, J. M., Correa-León, Y. P., López-Gutiérrez, E., Rodríguez-Noriega, E., González-Díaz, E., Choy-Chang, E. V., Mena-Ramírez, J. P., Monroy-Colín, V. A., Ponce-de-León-Garduño, A., ... Garza-González, E. (2023). Vigilancia activa de la resistencia a los antimicrobianos y de los genes que codifican para la carbapenemasas según los sitios de atención y los grupos de edad en México: resultados de la red INVIFAR. *Patógenos*, *12*(9), 1144. <https://doi.org/10.3390/pathogens12091144>

[20] Tsitsos, A., Damianos, A., Kiskinis, K., Tsiouris, V., Tirodimos, I., Soultos, N., Papa, A., & Economou, V. (2025). Prevalencia, caracterización y relación proteómica entre bacterias resistentes a los β -lactámicos a lo largo de la cadena de producción avícola en Grecia. *Alimentos*, *14*(2), 224. <https://doi.org/10.3390/foods14020224>

ANEXOS

BITÁCORA DE SEGUIMIENTO (6 MESES) PROYECTO DE SERVICIO SOCIAL

26 de mayo de 2025.

Nombre: Denisse Cristina Fragoso Serna

Licenciatura: Química Farmacéutica Biológica

Nombre del Proyecto: Características fenotípicas y genotípicas de bacterias gram negativas multidrogo resistentes causantes de infección crónica de vías urinarias

Fecha de Inicio: 25/11/2024

Fecha de Conclusión: 26/05/2025

Asesor interno: Julia Pérez Ramos

Asesor externo: Ulises Hernández Chinas

Para responder por el o la responsable del proyecto

Durante el cuarto mes se llevaron a cabo las siguientes actividades:

- Preparación de medios de cultivo: agar sangre, agar Mueller-Hinton y agar MacConkey.
- Realización de pruebas bioquímicas para la identificación de enterobacterias, incluyendo MIO, TSI, citrato de Simmons, urea agar base y MR-VP.
- Revisión y análisis de artículos científicos recientes con el objetivo de enriquecer la discusión del informe final.
- Redacción del informe final.


Durante el quinto y sexto mes, se desarrollaron las siguientes actividades:

- Preparación de agar Luria Bertani (LB), utilizando peptona de caseína, extracto de levadura, NaCl, agar bacteriológico y agua desionizada, para la resiembra de cepas de *K. pneumoniae*.
- Preparación de caldo LB para la inoculación de las colonias provenientes de las cepas de *K. pneumoniae* sembradas en agar LB. Las muestras fueron incubadas durante la noche a 37 °C con agitación constante a 200 rpm, como parte del protocolo para la posterior extracción de ADN por el método de tiocianato de guanidina.
- Cuantificación y evaluación de la pureza del ADN extraído mediante el equipo lector de microplacas Epoch de BioTek.
- Ajuste de la concentración del DNA extraído a 50 ng/μL.
- Evaluación de la integridad y peso molecular del ADN por electroforesis en gel de agarosa al 1%, utilizando TAE 1X como buffer de corrida y para la preparación del gel.
 - ✓ Se cargaron 5 μL de muestra ajustada a 50 ng/μL con 1 μL de buffer de carga y 2 μL del marcador de peso molecular con 2 μL adicionales de buffer de carga.
 - ✓ La corrida se realizó a 100 V durante 35 minutos.

- ✓ El gel fue teñido con bromuro de etidio al 0.001% y visualizado mediante transiluminación en el sistema OmniDoc Gel Documentation System (Cleaver Scientific, U.K.).
- Preparación de soluciones necesarias para la extracción de ADN, que se agotaban durante el proceso, tales como: etanol al 70%, solución de lisis (1.66 M tiocianato de guanidina, 0.16% N-lauril-sacarosil y 0.5 M EDTA pH 8), y la mezcla cloroformo:alcohol isoamílico (24:1).

Estas actividades se llevaron a cabo como preparación para la siguiente fase del proyecto, que consiste en realizar una PCR multiplex para la identificación de genes implicados en la codificación de enzimas específicas. Para ello, se solicitaron los primers correspondientes.

Cuál es el porcentaje de avance de su Proyecto de Servicio Social: 100%


Firma del responsable

Para responder por el asesor o asesora

Como califica el desempeño de la alumna o del alumno:

Excelente (X) Bueno () Regular () Malo ()

Tiene sugerencias para la alumna o el alumno: Ninguna


Firma del asesor interno

Firma del asesor interno

Fecha del reporte: 26/05/25.