

Universidad Nacional
Federico Villarreal

Vicerrectorado de
INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

FRECUENCIA DE *Klebsiella spp.* PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS AISLADAS DE FLORA FECAL DE PREESCOLARES

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
TECNOLOGÍA MÉDICA EN LA ESPECIALIDAD DE LABORATORIO Y
ANATOMÍA PATOLÓGICA**

AUTOR

Pardavé Patiño Kevin Leonel

ASESOR

Guerrero Barrantes César Enrique

JURADOS

Garay Bambaren Juana Amparo

Diaz Tello José Alberto

Champy Merino Roky Giovanni

Lima - Perú

2019

Índice

Resumen.....	v
Abstract.....	vi
I. Introducción.....	1
1.1 Descripción y formulación del problema.....	2
1.1.1 Descripción del problema.....	2
1.1.2 Formulación del problema.....	4
1.2 Antecedentes.....	5
1.3 Objetivos.....	8
□ Objetivo principal.....	8
□ Objetivos específicos.....	8
1.4 Justificación.....	9
II. Marco teórico.....	11
2.1 Bases teóricas.....	11
2.1.1. <i>Klebsiella spp.</i>	11
2.1.2. Carbapenémicos.....	13
2.1.3. Carbapenemasas.....	15
2.1.3.1. Carbapenemasas cromosómicas.....	16
2.1.3.2. Carbapenemasas adquiridas.....	17
2.1.4. Cultivos epidemiológicos.....	20
III. Método.....	22
3.1. Tipo de investigación.....	22
3.2. Ámbito espacial y temporal.....	22
3.2.1. Delimitación espacial.....	22
3.2.2. Delimitación temporal.....	22
3.3. Variables.....	23
3.4. Población y muestra.....	24
3.4.1 Población.....	24
3.4.2 Muestra.....	24

3.5. Instrumentos.....	25
3.6. Procedimientos.....	25
3.6.1 Recolección y Transporte de Muestra de Heces	25
3.6.2 Técnica de identificación por bioquímica convencional del género <i>Klebsiella spp.</i> con sospecha de producción de resistencia enzimática a carbapenémicos.	26
3.6.3 Test de tamizaje de resistencia a Carbapenémicos según el Método de Disco Difusión.	26
3.6.4 Método modificado de inactivación de carbapenémicos para confirmar producción de carbapenemasas.....	26
3.7 Análisis de datos	28
3.8 Consideraciones éticas	28
IV. Resultados.....	29
V. Discusión de los resultados	36
VI. Conclusiones.....	39
VII. Recomendaciones	40
VIII. Referencias.....	41
IX. Anexos	49
Anexo 1. matriz de consistencia del proyecto “frecuencia de <i>Klebsiella spp</i> productoras de carbapenemasas aisladas de flora fecal de preescolares”.....	49
Anexo 2. Ficha epidemiológica para los casos de <i>Klebsiella spp</i> productoras de carbapenemasas aisladas de flora fecal de preescolares	50
Anexo 3. Ficha de recolección de datos de muestras analizadas	51
Anexo 4. Flujograma de trabajo de la “frecuencia de <i>Klebsiella spp</i> productoras de carbapenemasas aisladas de flora fecal de preescolares”.....	52
Anexo 5. Puntos de corte estandarizados para enterobacterias según CLSI – M100 S28 - 2018....	53
Anexo 6. Términos de referencia.....	54
Anexo 7. Test de disco de difusión para las cepas de <i>Klebsiella spp.</i>	55

Dedicatoria:

A Dios por acompañarme todos los días de vida,
a mis padres Manuel e Isabel, a mis hermanos Daniel, Renzo, Anthony
y a mi novia Karla por el cariño y amor incondicional
para llegar a ser un profesional.

Resumen

En la actualidad la resistencia a los antimicrobianos es un serio problema de salud pública que requiere vigilancia epidemiológica, a su vez se ha demostrado el impacto económico que tendrá en unas décadas. esta vigilancia requiere intervención en la comunidad donde hoy existe una mala praxis en el control de antimicrobianos.

Objetivo: El objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia de *Klebsiella spp.* productoras de carbapenemasas aisladas de flora fecal de preescolares en una comunidad de El Agustino, 2018.

Métodos: En un estudio descriptivo, prospectivo de corte transversal. Se contó con 86 muestras de heces cultivadas en agar selectivo para enterobacterias resistentes a antimicrobianos mediante el uso del agar MacConkey con una cefalosporina. Los instrumentos empleados fueron las fichas de datos epidemiológicos llenadas al momento de la recolección de la muestra.

Resultados: Se identificaron 9 cepas de *Klebsiella spp.* (10.5%). Donde se encontró que las cepas de *Klebsiella spp.* no fueron productoras de carbapenemasas en preescolares de una comunidad de El Agustino.

Conclusiones: En la investigación no se encontraron cepas de *Klebsiella spp.* productoras de carbapenemasa en preescolares. Al evidenciar la producción de esta enzima a nivel hospitalario es importante realizar medidas de control en infecciones y vigilancia para limitar la propagación a la comunidad.

Palabras clave: *Klebsiella pneumoniae*, carbapenemasa, preescolares.

Abstract

Currently, antimicrobial resistance is a serious public health problem that requires epidemiological surveillance, in turn it has had the economic impact it will have in a few decades. This surveillance requires intervention in the community where today there is a bad practice in the control of antimicrobials.

Objective: The objective of this study was to determine the frequency of *Klebsiella spp.* Producers of selective carbapenemases of fecal flora of preschoolers in a community of El Agustino, 2018.

Methods: In a descriptive, prospective cross-sectional study. There were 86 stool samples grown on selective agar for antimicrobial resistant enterobacteria by using MacConkey agar with a cephalosporin. The instruments used were the epidemiological data sheets filled at the time of sample collection.

Results: 9 strains of *Klebsiella spp.* (10.5%). Where it was found that the strains of *Klebsiella spp.* they were not producers of carbapenemases in preschoolers of a community of El Agustino.

Conclusions: In the investigation no strains of *Klebsiella spp.* Carbapenemase producers in preschoolers. When evidencing the production of this enzyme at the hospital level, it is important to carry out infection control and surveillance measures to limit the spread to the community.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, carbapenemasa, preschoolers

I. Introducción

Se ha propuesto la iniciativa ONE HEALTH en el 2006, ella explica que la diseminación de la resistencia bacteriana no únicamente interviene en los nosocomios, como se creía, actualmente existen tres variables; la salud humana, sanidad animal y el medio ambiente los que fortalecen y acrecientan la diseminación del fenómeno de la resistencia bacteriana.

La comunidad ha tomado un mayor protagonismo, debido a la automedicación y la falta de control en la venta de antimicrobianos de amplio espectro. Gracias a esta mala praxis la situación que actualmente se contempla es la falta de herramientas en la lucha de infecciones bacterianas complejas como son aquellas protagonizadas por bacterias con un perfil de resistencia ampliado, que limita las opciones terapéuticas y posibilita un riesgo elevado de mortalidad en el paciente que sufre este tipo de infecciones. Por tal razón es importante conocer la fuente de estos microorganismos y tomar acciones que corten el flujo de diseminación.

En este caso la vigilancia epidemiológica de portadores asintomáticos de bacterias multidrogo - resistentes es una necesidad, el siguiente trabajo se centró en la comunidad donde identificamos enterobacterias y específicamente las del género *Klebsiella*. Debido a su versatilidad en la captación molecular de nuevos mecanismos de resistencia de gran interés específicamente de tipo enzimático y aquellas proteínas que inactivan o hidrolizan a los carbapenémicos, conocidas como carbapenemasas.

1.1 Descripción y formulación del problema

1.1.1 Descripción del problema

La resistencia bacteriana es una lucha constante por la supervivencia humana y bacteriana, es así que actualmente los microorganismos han diseminado plásmidos que confieren información para expresar enzimas que neutralicen antimicrobianos de amplio espectro. (Bush, 2010).

Este avance hace difícil el uso de antibióticos betalactámicos frente a estos microorganismos ya que deja con menos opciones terapéuticas, es importante mencionar también el uso desmedido de antimicrobianos, fracasos a nivel terapéutico, eliminación masiva de estos fármacos al medio ambiente, el uso para favorecer el crecimiento de animales hace que la diseminación de genes de resistencia altere la microbiota de todos los sistemas. (Pacheco, 2012)

La presencia de pacientes colonizados es una de las vías más importantes para la propagación de bacterias multirresistentes, su contención es una prioridad clínica y de salud pública reconocido por diferentes instituciones a nivel internacional. Los estudios de vigilancia son imprescindibles para la detección precoz de la colonización de estas bacterias. Se deben incluir especies de mayor interés debido a su impacto a nivel clínico, epidemiológico y a los inconvenientes terapéuticos que pueda generar. (Oteo, 2015)

Es así que toma importancia el hacer un estudio para la detección temprana de la colonización de estas bacterias a nivel comunitario debido a la alta incidencia de casos de

bacterias productoras de carbapenemasas a nivel intrahospitalario, el uso desmedido de antibióticos genera también preocupación puesto que es un factor para sensibilizar bacterias que son parte de la microbiota. La producción de enzimas inactivadoras de carbapenémicos o carbapenemasas carbapenemasas, es uno de los más recientes, quizás de los que más generan problemas ya que frente a microorganismos gran negativos multirresistentes dejan con muy pocas opciones terapéuticas. (Morejón, 2012)

La actual complejidad en el manejo de las enfermedades infecciosas y el aumento de las resistencias hace necesarios la creación de programas de optimización del uso de antimicrobianos en los hospitales (PROA). Son programas multidisciplinarios que surgen ante el aumento de los microorganismos resistentes a los antimicrobianos, con el objetivo de minimizar los efectos adversos asociados con la utilización de antimicrobianos y la finalidad de reducir el gasto derivado de su uso. (Rodríguez et al., 2012)

Esta investigación pretende conocer afondo la diseminación en el ámbito a nivel comunitario de *Klebsiella spp.* productoras de carbapenemasas aisladas en materia fecal.

1.1.2 Formulación del problema

1.1.2.1. Problema General

- ¿Cuál es la frecuencia de *Klebsiella spp.* productora de carbapenemasas aisladas en flora fecal de preescolares en una comunidad de Ancieta, El Agustino junio 2018?

1.1.2.2. Problemas Específicos

- ¿Cuál es la frecuencia de *Klebsiella spp.* productoras de carbapenemasas en preescolares según sexo en una comunidad de Ancieta, El Agustino junio 2018?
- ¿Cuál es la frecuencia de *Klebsiella spp.* productoras de carbapenemasas en preescolares con antecedentes de hospitalización en una comunidad de Ancieta, El Agustino junio 2018?
- ¿Cuál es la frecuencia de *Klebsiella spp.* resistente a carbapenémicos no productoras de carbapenemasas aisladas en flora fecal de preescolares en una comunidad de Ancieta, El Agustino junio 2018?

1.2 Antecedentes

En la búsqueda de información se encontró estudios relacionados con el tema a tratar, encontrándose investigaciones de tipo descriptivo con una, dos o más variables.

Pakistán, determinaron las tasas de colonización intestinal con enterobacterias productoras de BLEE y carbapenemasas entre los bebés sanos en un entorno comunitario. Se evaluaron la materia fecal de 100 bebés sanos que vivían en una comunidad suburbana pakistani entre las edades de 5 y 7 meses. Las muestras se plaquearon en agar Mac Conkey para seleccionar bacterias Gram negativas. Se usaron pruebas moleculares en busca de genes BLEE y carbapenemasas, donde se hallaron que el 7.5% fueron positivos para enterobacterias productoras de carbapenemasas, los cuales pertenecían a *Klebsiella spp.* Las pruebas moleculares mostraron que el 33% expresaban el gen KPC carbapenemasa. (Saleem et al., 2017)

Egipto, realizaron un estudio en 600 pacientes (450 no hospitalizados y 150 pacientes ingresados en diferentes departamentos del Hospital) atendidos en el hospital Kasr Alaini e investigados en el laboratorio de microbiología de los Hospitales Universitarios de El Cairo. La edad del grupo I varió de 18 a 82 años mientras que la edad del grupo II varió de 10 a 77 años. De ellos 12 muestras fueron positivas a métodos fenotípicos y moleculares que dieron positivos a la producción de carbapenemasas del tipo OXA – 48. Dos de ellos fueron pacientes no hospitalizados. (Sayed et al., 2013)

En India se realizó un estudio de vigilancia para investigar el transporte de Enterobacteriaceae resistentes al carbapenémicos en el tracto gastrointestinal entre los pacientes que asisten a la clínica ambulatoria en un centro de atención terciaria de East Delhi,

India. Se examinaron 242 aislamientos de Enterobacteriaceae para la producción de carbapenemasas a partir de 123 muestras de heces de pacientes ambulatorios donde el 9.9% de los aislados demostraron actividad carbapenemasa. (Rai et al., 2014)

En España, en una investigación evaluaron un total de 1.100 muestras fecales de pacientes hospitalizados (26.8%) y no hospitalizados (73.2%) para hallar enterobacterias productoras de carbapenemasas donde el 82% de los pacientes colonizados no estaban infectados con enterobacterias productoras de carbapenemasas. (Gijón et al., 2012)

En Perú, en el Hospital Nacional Dos de Mayo se describen los primeros reportes de *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasa tipo NDM, en total fueron nueve cepas de KPC NDM, confirmado por caracterización molecular y tipificación molecular en el INS, el 44% eran varones mientras que el 56% eran mujeres. (Resurrección et al., 2017)

En Argelia, realizaron un estudio para la detección de enterobacterias productoras de carbapenemasas (CPE) en 414 madres y 422 recién nacidos, donde se encontró una tasa de prevalencia de CPE de 4,6% (19/414) y 1,6% (7/422) respectivamente. El 86% (24/28) correspondía al género *Klebsiella pneumoniae* mientras que el 14% (4/28) fueron identificados como *Escherichia coli*, todos ellos tenían el gen blaOXA-48. (Mairi et al., 2019)

En Shangai, se realizó un estudio en un hospital pediátrico para la detección de enterobacterias productoras de carbapenemasas, se trabajó con 880 muestras fecales en niños de edades entre 1 año y 2 años, donde se identificaron 32 cepas (3,6%) de 32 muestras fecales no duplicados. Mediante la identificación fenotípica se evidenció que dentro de las CPE (enterobacterias productoras de carbapenemasa) el 38% fueron cepas de *Klebsiella*

pneumoniae (12/32), el 38% a *E. coli*, 19% a *E. cloacae* y otros 5%. De esta población identificada 59% fueron varones en cuanto a la población femenina fue de 41%. En cuanto al historial de hospitalización 28% (9/32) de los niños tenían un historial en los últimos 3 meses además habían recibido una terapia con antibióticos, dos de estos niños habían recibido operación invasiva durante su hospitalización. En la sensibilidad a los antimicrobianos todas las CPE mostraron una alta resistencia a las cefalosporinas y carbapenémicos (>95%). Las tasas de susceptibilidad a amikacina, ciprofloxacina, aztreonam y fosfomicina eran 75,24,21.6 y 15.6% respectivamente. El gen más común encontrado en el estudio fue el tipo bla NDM-1 (44%, 14/32), seguido de bla NDM-5 (19%, 6/32) y otros genes incluyendo carbapenemasa bla KPC-2, bla IMP-26 y bla IMP-4. (Pan et al., 2019)

En Singapur, se llevó un estudio para evaluar el aumento de la mortalidad en enterobacterias resistentes a carbapenémicos, donde de 73 portadores de enterobacterias resistentes productoras de carbapenemasas (CP-CRE) el 15,4% de los portadores que desarrollaron una infección con aislados clínicos del mismo genotipo CP-CRE murieron dentro de los 14 días, mientras que el 62,5% de los que desarrollaron una infección con aislados clínicos de un genotipo diferente murieron. (Chen et al., 2019)

En Etiopía, se realizó una investigación en un hospital con pacientes hospitalizados con 267 muestras de heces. Donde a partir de cepas de enterobacterias productoras de BLEE se evidenciaron cepas productoras de carbapenemasas 2% (5/267). Todos detectados en niños, 3 de ellos *E coli* cefalosporinasa AmpC resistente a ertapenem y 2 con *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa (KPC) resistentes a meropenem, ertapenem e imipenem. Se presenta una alta tasa de colonización gastrointestinal con BLEE, AmpC y la aparición de cepas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a carbapenémicos en este país. (Desta et al., 2019)

1.3 Objetivos

➤ **Objetivo principal**

- Determinar la frecuencia de *Klebsiella spp.* productora de carbapenemasas aisladas en flora fecal de preescolares en una comunidad de Ancieta, El Agustino junio 2018.

➤ **Objetivos específicos**

- Determinar la frecuencia de *Klebsiella spp.* productoras de carbapenemasas en preescolares según sexo en una comunidad de Ancieta, El Agustino junio 2018.
- Determinar la frecuencia de *Klebsiella spp.* productoras de carbapenemasas en preescolares con antecedentes de hospitalización en una comunidad de de Ancieta, El Agustino junio 2018.
- Determinar la frecuencia de *Klebsiella spp.* resistente a carbapenémicos no productores de carbapenemasas aisladas en flora fecal de preescolares en una comunidad de Ancieta, El Agustino junio 2018.

1.4 Justificación

El fenómeno de la resistencia bacteriana es actualmente considerado una epidemia, debido a una insuficiente o inexistente política en el control de antimicrobianos (Gil 2012). Tiene serias repercusiones en salud humana, sanidad animal, vegetal y en el medio ambiente consideradas todas ellas fuentes de origen de bacterias con perfiles de resistencia ampliados a los antimicrobianos de uso frecuentes. (Yagui, 2018)

Estas fuentes poseen vías de propagación de bacterias multirresistentes, una de ellas la colonización entérica de pacientes o sujetos asintomáticos. Éstos llevan los microorganismos con estas características a los hospitales donde se diseminan y terminan por generar una tasa de mortalidad elevada. (Oteo et al., 2017).

La magnitud del problema se describe en el informe “Reporte global sobre la vigilancia de la resistencia antimicrobiana” de la OMS en el año 2014 que detalla los principales agentes de infección y mecanismos de resistencia, dentro de ellos *Klebsiella spp.* con niveles de resistencia elevados a las cefalosporinas de 3ra generación (OMS, 2014). Así mismo otros autores detallan que la producción de carbapenemasas en *Klebsiella spp.* aisladas en pacientes humanos confiere una tasa de mortalidad del 40% (Ramos-Castañeda et al. 2018).

Los reportes señalan que los primeros casos de carbapenemasas producida por *Klebsiella* se informaron en Estados Unidos en 1996; en América Latina (Medellín - Colombia) se informaron en el 2005; más tarde se reportó un caso en Chile en 2012 y en 2013 - 2016 en Lima-Perú (Velásquez et al. 2013) (Resurrección et al., 2017).

La tan temida resistencia a carbapenémicos posee diversas posibilidades, dentro de ellas, la incrementada producción de una betalactamasa y AmpC, un cambio de porinas o debido a uno de sus mecanismos más importantes, la producción de carbapenemasas. (Martínez & González 2014).

La producción de carbapenemasas por si es un problema muy grave pues se sabe que estas se transmiten mediante plásmidos y que este material genético no viaja solo, sino que contienen otros genes que confieren resistencia a quinolonas, aminoglucósidos, tetraciclinas, sulfonamidas y otras familias de agentes antimicrobianos, que causan multirresistencia o incluso pan resistencia (Martínez & González 2014).

Así entonces que la contención del problema debe ser prioridad asistencial y de salud pública. Por tal efecto los estudios de vigilancia son imprescindibles para una detección precoz de la colonización por estas bacterias. (Oteo et al., 2017). La presente investigación tiene como objetivo determinar la frecuencia de *Klebsiella spp.* productora de carbapenemasas aisladas de flora fecal de preescolares y sumar esfuerzos en la vigilancia epidemiológica de esta epidemia como es resistencia a los antimicrobianos”.

II. Marco teórico

2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1. *Klebsiella* spp.

2.1.1.1. Clasificación:

Perteneciente al filum *Proteobacterias*, clase *Gammaproteobacteria* y la Orden *Enterobacteriales*. Se encuentra incluida en la tribu *Klebsiellae* que contiene en su clasificación a cuatro géneros *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia* y *Serratia*. Todos ellos poseen especies patógenas manifiestas y oportunistas del hombre.

El género *Klebsiella* tomo el nombre en honor a Edwin Klebs un microbiólogo alemán. (Koneman & Allen 1999). Además, el género *Klebsiella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y se puede subdividir en una serie de especies, incluyendo:

<u><i>Klebsiella</i></u>	<i>granulomatis</i>
	<i>mobilis</i>
	<i>ornithinolytica</i>
	<i>oxytoca</i>
	<i>planticola</i>
	<i>pneumoniae</i>
	<i>singaporensis</i>
	<i>terrigena</i>
	<i>trevisanii</i>
	<i>variicola</i>

<i><u>Klebsiella pneumoniae subsp.</u></i>	<i>pneumoniae,</i>
	<i>ozaenae</i>
	<i>rhinoscleromatis</i>

Figura1. Subespecies de *Klebsiella pneumoniae* (Adaptado De Jesús et al., 2015).

2.1.1.2. Características microscópicas:

Bacilo (forma de varilla) de coloración Gram negativo que mide de 0.3 a 1.8 um de tamaño, no móvil (López & Echeverri, 2010).

2.1.1.3. Características microbiológicas:

Estas bacterias no móviles son lactosa positiva, anaerobios facultativos, proliferan a 37°C y producen colonias mucoides característicamente en medios ricos en glúcidos, atribuidas a la presencia de una cápsula. (Koneman & Allen, 1999)

Las reacciones bioquímicas se pueden utilizar para la identificación y diferenciación de género. Las *Klebsiella* son oxidasa negativa, catalasa positiva, la mayoría de las cepas pueden hidrolizar la urea, reducir los nitratos sin la producción de hidrógeno sulfurado y gas, así como utilizar la glucosa y citrato como fuentes de carbono.

(Jawetz, Melnick & Adelberg, 2015)

Para la fermentación de la glucosa, se producen un gas y un ácido. La fermentación de la glucosa se traduce en la formación de acetoína y 2,3-butanodiol (Drancourt et al., 2001) (De Jesús et al., 2015).

2.1.1.4. Hábitat:

Las especies de *Klebsiella* son ubicuos y se conoce dos hábitats ampliamente distribuidos y muy bien definidos:

- a) Medio ambiente: Puede subsistir en aguas superficiales, aguas residuales en el suelo incluso en plantas.
- b) Superficies mucosas de mamíferos, incluyendo los seres humanos (nasofaringe y tracto intestinal) de forma saprofita, la piel no es propicia para su crecimiento, pero puede ser transitoriamente colonizado (Podschun & Ullmann, 1998) (De Jesús et al., 2015).

2.1.1.5. Factores de Virulencia:

Klebsiella pneumoniae es la especie de mayor importancia clínica y más estudiada dentro del género. Desarrolla una cápsula que actúa como factor de virulencia y que la protege de la fagocitosis por parte de los polimorfonucleares y de los factores bactericidas séricos, inhibiendo la activación del complemento, esencialmente del C3b (López & Echeverri, 2010).

2.1.2. Carbapenémicos

Son antibióticos betalactámicos, con el más amplio espectro de actividad antibacteriana, presenta actividad bactericida contra microorganismos aeróbicos y anaeróbicos y bacterias Gram-positivas y Gram negativas, incluyendo patógenos no fermentativos. (Bush 2013)

En un inicio fueron utilizados como monoterapia sólo para infecciones muy graves, su uso es amplio incluso de forma empírica en entornos nosocomiales. Pero en las últimas tres décadas se ha documentado el uso de Ertapenem como terapia antimicrobiana parenteral ambulatoria, es dosificado una vez al día en pacientes con infecciones urinarias complicadas (Török et al. 2010).

2.1.2.1 Resistencia a Carbapenémicos:

Como resultado del uso creciente de Carbapenémicos la resistencia hacia ellos también ha ido en aumento. En Gram-negativos existe una causa primaria de resistencia a Carbapenémicos que implica mutaciones cromosómicas que no requiere de nuevo material genético y son:

- a) La producción de Betalactamasas que frecuentemente se asocia con los cambios en la absorción de los antibióticos debido a alteraciones de porinas.
- b) Hiperproducción de AmpC junto con la pérdida de funcionalidad de porina esto se ha informado en bacterias entéricas (Davies et al. 2011).
- c) La pérdida de la porina OprD en *Pseudomonas aeruginosa* es un particular mecanismo de resistencia, especialmente cuando una gran cantidad de betalactamasas AmpC es producida.
- d) La regulación positiva de los sistemas de flujo de salida también puede contribuir a la resistencia a Carbapenémicos en los aislados de *Pseudomonas* (Quale et al. 2006) (Rodríguez-Martínez et al. 2009).

Existe una forma de resistencia cada día más frecuentemente, y se debe para la producción de una carbapenemasa betalactamasa hidrolizante que pueden ser producidos ya sea constitutivamente o introducido en un móvil elemento genético.

Carbapenemasas se encuentran en tres de las cuatro clases moleculares de b-lactamasas (A, B y D) y de la funcionalidad (Sub) grupos 2f, 2dF y 3.

Las carbapenemasas incluyen como sustratos no sólo carbapenémicos, sino también penicilinas y la mayoría de las cefalosporinas. En particular, la metalo-betalactamasas (MBL) no hidroliza monocíclicos b-lactámicos, tales como aztreonam, que puede actuar como buenos sustratos para serina carbapenemasas (Yigit et al., 2003)

2.1.3. Carbapenemasas

El problema con las enterobacterias que son productoras de carbapenemasas es que son sensibles a pocos antimicrobianos, debido a su capacidad enzimática para hidrolizar la mayoría de los demás betalactámicos, además es frecuente la coexistencia de mecanismos adicionales de resistencia a otras clases de antibióticos, por ejemplo, fluoroquinolonas y aminoglucósidos. (SEIMC, 2007).

Un impulsor de la expansión clonal y transmisión exitosa en la difusión de carbapenemasas dentro de enterobacterias, ya sea de forma horizontal o transferencia de elementos genéticos móviles para la producción de carbapenemasas, es *Klebsiella pneumoniae* del tipo clonal ST 258 que son de difusión global denominadas “clonas de alto riesgo internacional”, similar a ST131 *E. coli* (Mathers et al., 2015).

Con respecto a ST258 se hablan de dos clases (I y II), la clase I se asocia a ST258A altamente relacionado a bla KPC-2 mientras que la clase II tiende a llevar bla KPC-3 asociados a ST258B (Van Duin et al., 2014).

2.1.3.1. Carbapenemasas cromosómicas

También conocidas como serin-carbapenemasas, reconocidas por primera vez en *Enterobacteriaceae* betalactamasas cromosómicas por Medeiros y Hare en 1986 (Rasmussen et al. 1996) (Queenan et al., 2000).

Serin-carbapenemasas, encontradas exclusivamente en *Serratia marcescens*, es el más frecuente conjunto identificado de carbapenemasas clase A intransferibles. Actualmente informadas esporádicamente en todo el mundo, estas carbapenemasas son menos perjudiciales debido a que siguen siendo susceptibles a algunas cefalosporinas tales como cefotaxima y cefepima que son pobremente hidrolizados (Bush, 2013).

Las Metallo-Betalactamasas cromosómicas que se reconocieron muy temprano en la historia de publicaciones de betalactamasa, cuando se demostró que *Bacillus cereus* producía actividad de cefalosporinasa que podría inhibirse parcialmente por ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). Las MBL se producen como enzimas cromosómicas por una variedad de bacterias, incluidos bacilos Gram-positivos, bacilos Gram-negativos, no fermentativos bacterias y bacterias anaerobias. (Bush, 2013)

2.1.3.2. Carbapenemasas adquiridas

2.1.3.2.1. Serin-carbapenemasas

Enzimas diseminadas globalmente, la más notoria es la familia KPC que surgió de aislados clínicos únicos a principios de la década de 2000 (Bush, 2010).

Los miembros más comunes de la familia KPC son las enzimas KPC-2 y KPC-3, variantes que difieren en un solo aminoácido y que son producidos por bacterias entéricas, así como organismos no fermentativos. Poseen capacidades hidrolíticas de amplio espectro hacia todas las clases de betalactamasas, incluyendo monobactámicos. (Bush 2013).

Generalmente se encuentran acompañadas por otras enzimas en el aislamiento. En bacterias entéricas, las enzimas KPC-2 y KPC-3 son a menudo encontradas con penicilinasas como TEM-1 y generalmente una betalactamasa SHV 11 o 12 esta última con mayor frecuencia; también se asocian otras enzimas como las OXA y CTX-M, pero con menor frecuencia. (Bush 2013).

2.1.3.2.2. Métalo- β -lactamasas

MBL adquiridas no han ganado prominencia en los últimos 15 años. Con el uso creciente de carbapenémicos para tratar infecciones causadas por bacterias productoras de BLEE, ha habido un aumento concomitante en las MBL adquiridas en todo el mundo, con un total actual de 42 miembros en la familia IMP, 37 variantes de VIM y 7 MBL relacionadas con NDM-1. (Bush 2013).

De forma similar que las serin, las MBL poseen enzimas compañeras, las más comunes son TEM-1, seguido de SHV o CTX-M β -lactamasas. Ejemplos de eso son SHV-11, SHV-12

y CTX-M-15 que son identificados con frecuencia en aislamientos productores de IMP y NDM-(Bush 2013).

2.1.3.3. Clasificación molecular de las enzimas carbapenemasa

Se ha identificado una gran variedad de carbapenemasas en *Enterobacteriaceae* pertenecientes a 3 clases de Betalactamasas: Las clases Ambler A, B y D.

Según Ambler las β -lactamasas de Clase A, B y D comparten un residuo de serina en el sitio activo. El papel clínico de una cuarta clase (Ambler clase C) es desconocido, pero posee cierta actividad extendida hacia carbapenémicos (Queenan & Bush 2007).

2.1.3.3.1. Carbapenemasas de clase A

Se han identificado varias clases según sean codificadas de forma:

- a) Cromosómica:
 - NmcA (No metaloenzima carbapenemasa A)
 - SME (Enzima *Serratia marcescens*)
 - IMI-1 (Betalactamasa que hidroliza imipenem)
 - SFC-1 (*Serratia fonticola* carbapenemase-1)
- b) Plasmídica:
 - KPC (KPC-2 a KPC-13)
 - IMI (IMI-1 a IMI-3)
 - GES (espectro extendido de Guayana)

Todos hidrolizan activamente carbapenémicos y están parcialmente inhibidos por ácido Clavulánico (Nordmann et al. 2011) (Bedenić et al 2014).

Los productores de KPC han evolucionado para ser resistentes a múltiples fármacos frente a los betalactámicos, lo que limita las opciones terapéuticas para tratar infecciones relacionadas con KPC.

2.1.3.3.2. Carbapenemasas de clase B

Estas enzimas son principalmente de la clase de β -lactamasas que tienen la capacidad de hidrolizar carbapenémicos, pero son susceptibles a la inhibición por ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), un quelante de Zn^{2+} y otros cationes divalentes.

El mecanismo de hidrólisis depende de la interacción de los fármacos β -lactámicos con los iones de zinc en el sitio activo de la enzima.

Las familias de metalo- β -lactamasa más comunes incluyen:

- Metalo betalactamasa 1 de Nueva Delhi (NDM-1)
- Carbapenemasas de *Pseudomonas* (IMP) resistentes a imipenem
- VIM (metalo- β -lactamasa codificada por integro de Verona)
- GIM (Imipenemase alemán)
- SIM (imipenemase de Seúl)

Los genes que codifican estas enzimas a menudo se encuentran dentro de una variedad de estructuras de integrones y se incorporan en los casetes de genes (Codjoe & Donkor 2017).

2.1.3.3.3. Carbapenemasas de clase D

Estas enzimas son serina- β -lactamasas poco inhibidas por EDTA o ácido clavulánico. Estas carbapenemasas son del tipo de la enzima OXA y tienen una actividad débil contra los carbapenémicos. Las enzimas se encuentran principalmente en organismos no fermentadores tales como *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y raramente en aislados de la familia *Enterobacteriaceae* en la mayoría de los países.

La β -lactamasa OXA con actividad carbapenemasas fue descrita por primera vez por Paton et al., la enzima purificada de un *Acinetobacter baumannii* multirresistente aislado en 1985 de un paciente en Edimburgo, Escocia (Paton et al., 1993).

Los productores de tipo OXA-48 se encuentran entre los productores de carbapenemasas más difíciles de identificar debido a sus análogos mutantes puntuales con BLEE; por lo tanto, sus verdaderas tasas de prevalencia son difíciles de estimar. A lo largo de los años, se han identificado 102 secuencias únicas de OXA, de las cuales 9 son β -lactamasas de espectro extendido y al menos 37 se consideran carbapenemasas (Codjoe & Donkor 2017).

2.1.4. Cultivos epidemiológicos

La infección nosocomial es en la actualidad uno de los principales problemas sanitarios, teniendo particular importancia las infecciones causadas por bacterias multirresistentes. Probablemente es también razonable aplicar el término a los microorganismos que presentan de forma natural resistencia a múltiples antimicrobianos de uso clínico habitual y que han sido capaces de adquirir resistencia a alguno de los restantes grupos de antimicrobianos con

posible utilidad clínica. La multirresistencia aparece como consecuencia de mecanismos bioquímicos codificados a nivel del cromosoma o por diversos elementos móviles. Esta última posibilidad añade mayor gravedad al problema, pues la diseminación del correspondiente elemento móvil favorece la aparición de brotes nosocomiales. (Cano, 2008, p. 2)

Muchos estudios han demostrado que es útil realizar cultivos de vigilancia epidemiológica para conocer la verdadera dimensión del problema de la multirresistencia en un centro o en una unidad, pues la información que puede inferirse de los resultados de los cultivos de muestras clínicas obtenidas con fines diagnósticos sólo representa una parte (con frecuencia la menor) de este. Estos estudios deben considerarse una herramienta adicional en los programas de control de la transmisión nosocomial de estos microorganismos. Desgraciadamente la puesta en marcha de estos programas supone una carga económica importante, tanto en personal como en medios materiales, por lo que debieran aplicarse en el contexto de un programa global, encaminado en última instancia al control de la infección nosocomial. (Cano, 2008, p. 2)

III. MÉTODO

3.1. Tipo de investigación

La presente investigación es de tipo cuantitativa descriptiva, prospectiva de corte transversal. No experimental.

3.2. Ámbito espacial y temporal

3.2.1. Delimitación espacial

La presente investigación constó de dos etapas:

- Recolección de muestra: En una comunidad del distrito de El Agustino, Lima, Perú.
- Procesamiento de muestras: Realizado los ambientes de los laboratorios de la facultad de Tecnología Médica de la Universidad Nacional Federico Villarreal ubicado en el Jr. Rio Chepén S/N, El Agustino.

3.2.2. Delimitación temporal

La recolección de las muestras se realizó durante el mes de junio del 2018 y el procesamiento de muestras y datos durante el periodo Junio - Julio del 2018.

3.3. Variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	TIPO	ESCALA
Frecuencia de <i>Klebsiella spp.</i>	La frecuencia está determinada por un valor en porcentaje de presencia de <i>Klebsiella spp.</i> en pacientes preescolares	Se refiere a la cantidad total de e <i>Klebsiella spp.</i> entre la cantidad de total de enterobacterias con sospecha de producción de carbapenemasa.	Identificación de género mediante bioquímica.	Independiente cuantitativo	Razón
			Uso del agente		
Producción de Carbapenemasa	Presencia de genes específicos o características fenotípicas relacionados con la resistencia a carbapenémicos.	Enzimas que confieren resistencia a antibióticos carbapenémicos	Carbapenemasa negativa: Halo con diámetro ≥ 19 mm.	Independiente cualitativo	Nominal
			Carbapenemasa intermedia: Halo con diámetro de 16 – 18 mm.		
			Carbapenemasa positiva: Halo con diámetro de 6 – 15 mm.		

3.4. Población y muestra

3.4.1 Población

Muestras de heces de niños de 3 a 5 años de edad de una comunidad del distrito de El Agustino de la ciudad de Lima.

3.4.1.1.1 Unidad de análisis

Cepas de *Klebsiella spp.* Aisladas a partir de muestras de heces de preescolares (niños de 3 a 5 años) en una comunidad del distrito de El Agustino.

3.4.2 Muestra

Estuvo constituida por muestras de heces de 86 niños que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión, de una comunidad en preescolares (niños de 3 a 5 años de edad) de una comunidad de El Agustino durante el periodo Junio y Julio del 2018.

Criterios de inclusión

- Aislamientos de *Klebsiella spp.* sospechosos de producir carbapenemasas en el agar selectivo para enterobacterias multidrogorresistentes.
- Datos demográficos completos de los portadores de las cepas sospechosas

Criterios de exclusión

- Aislamientos de bacterias diferentes a *Klebsiella spp.*

- Aislamientos repetidos por portador.
- Datos demográficos incompletos.

3.5. Instrumentos

Ficha de Datos Epidemiológicos (Anexo 2) llenadas al momento de recolectar la muestra y la Ficha de Recolección de Datos de muestras analizadas (Anexo N° 03) llenada durante la ejecución del presente estudio.

3.6. Procedimientos

3.6.1 Recolección y Transporte de Muestra de Heces

- Se visitó los centros de educación inicial de El Agustino y se procederá a realizar la charla informativa de recolección de muestras de heces.
- El día de entrega de muestras se llenó la Ficha de Datos Epidemiológicos (Anexo N° 02)
- Las muestras fueron transportadas hasta los Laboratorios de la Facultad de Tecnología Médica de la Universidad Nacional Federico Villarreal ubicada en el Jr. Río Chepén s/n El Agustino para realizar el aislamiento de Enterobacterias resistentes a Betalactámicos en el medio de vigilancia epidemiológica Mc Conckey con Cefotaxima 2 ug/l mediante siembra por agotamiento y se incubará a 37°C por 48 horas. SEIMC (2017)

3.6.2 Técnica de identificación por bioquímica convencional del género *Klebsiella spp.* con sospecha de producción de resistencia enzimática a carbapenémicos.

- Las colonias que crecieron en el medio de vigilancia epidemiológica fueron identificadas dentro del género *Klebsiella spp.* por bioquímica convencional empleando los medios diferenciales de Citrato y TSI (Agar triple azúcar hierro) y conservadas en Agar TSA (Trypticase Soya). INS (2001)

3.6.3 Test de tamizaje de resistencia a Carbapenémicos según el Método de Disco Difusión.

- El tamizaje fenotípico de *Klebsiella spp.* sospechosas de resistencia a carbapenémicos se realizó según el método de disco difusión empleando una placa de Petri con agar Mueller Hinton y discos de Imipenem 10 ug (IMI) y Meropenem 10 ug (MEM). Se dejó incubando a 37°C por 18 a 24 horas.
- La sospecha de producción de carbapenemasas se evidenció por la presencia de halos reducidos (< 23 mm) alrededor de ambos discos. CLSI M100-S28 (2018).

3.6.4 Método modificado de inactivación de carbapenémicos para confirmar producción de carbapenemasas.

- Aquellas cepas con sospecha de producción de carbapenemasas fueron evaluadas por el Método Modificado de Inactivación de Carbapenémicos donde se realizó una suspensión con un asa calibrada de 1 uL en una alícuota de 2 mL de TSB (Caldo

Tripticasa Soya) para luego colocar un disco de Meropenem 10 ug (MEM) dentro de la suspensión y se incubó por 4 horas a 35°C.

- Culminado el tiempo de incubación se retiró el disco de MEM y se colocó en una placa de Agar Mueller Hinton previamente inoculada con una cepa de *E. coli* ATCC®25922 y se incubó por 18 horas a 35°C.
- Interpretación de resultados:
 - a) Carbapenemasa positivo: Halo con diámetro de 6 – 15 mm o presencia de colonias aisladas dentro de 16 – 18 mm del halo de inhibición.
 - b) Carbapenemasa negativo: Halo con diámetro mayor o igual a 19 mm debido a que el aislamiento ensayado no produce carbapenemasas, el meropenem en el disco no se hidrolizará e inhibirá el crecimiento de *E. coli* susceptible a meropenem ATCC® 25922.
 - c) Carbapenemasa intermedia: Halo con diámetro de 16 – 18 mm o halo mayor o igual a 19 mm con presencia de colonias aisladas dentro del halo de inhibición. Esto indicará que la presencia o ausencia de una carbapenemasa no puede ser confirmada. CLSI M100-S28 (2018).

3.6.5 Análisis de resultados

- Se ordenaron los resultados en una tabla utilizando el programa Microsoft Office Excel versión 2013 según la frecuencia de *Klebsiella spp.* recuperadas en el medio de vigilancia epidemiológica, la sospecha de producción de carbapenemasas en el test de tamizaje y la confirmación de producción de carbapenemasas en el método modificado de inactivación de carbapenémicos.

3.7 Análisis de datos

Toda la información obtenida se trasladó a una base de datos virtual de estadística descriptiva mediante el uso del programa Microsoft Office Excel versión 2013 y los resultados fueron presentados mediante el uso de tablas de frecuencias.

3.8 Consideraciones éticas

Todos los procedimientos del presente estudio fueron realizados en aislamientos bacterianos. Los datos demográficos de los participantes de donde procedieron las cepas bacterianas aisladas fueron mencionados en el trabajo, manteniendo la confidencialidad según los lineamientos de las buenas prácticas clínicas y de ética en investigación biomédica. Se garantizó la confidencialidad de los datos personales obtenidos.

IV. Resultados

Las muestras de heces de 86 preescolares fueron ingresadas en el estudio, estas fueron sembradas en el medio de vigilancia epidemiológica (Agar Mac Conkey suplementado con cefotaxima), a cada muestra se le asignó un código de identificación, lo que permitirá enlazar la información demográfica de la encuesta sin transgredir las normas éticas.

Tabla 1

Porcentaje de muestras donde con aislamiento de cepas sospechosas de ser productoras de carbapenemasas en una comunidad de El Agustino junio 2018.

Crecimiento de cepas	N°	%
Con sospecha	56	65.1
Sin sospecha	30	34.9
Total	86	100

Fuente: Datos de la investigación.

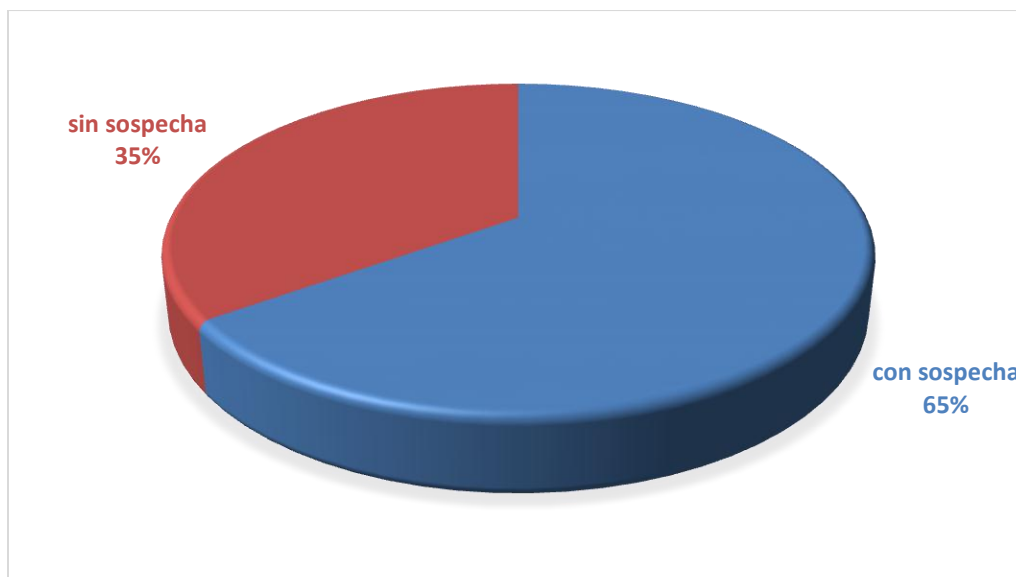


Fig. 1 Porcentaje de muestras donde con aislamiento de cepas sospechosas de ser productoras de carbapenemasas en una comunidad de El Agustino junio 2018.

Luego de incubar por 18h las placas sembradas, se realizó la lectura observando colonias lactosa positivas, en el 99% y lactosa negativa el 1% por lo cual se realizó la bioquímica convencional. En la tabla 2 se detalla.

Tabla 2

Porcentaje de especies bacterianas aisladas e identificadas fenotípicamente por bioquímica convencional con sospecha de producción de carbapenemasas

MICROORGANISMO	N°	%
<i>Escherichia coli</i>	44	78.6
<i>Klebsiella spp.</i>	9	16.0
<i>Shigella sp.</i>	1	1.8
<i>Enterobacter sp.</i>	1	1.8
<i>Pseudomona sp.</i>	1	1.8
TOTAL	56	100

Fuente: Datos de la investigación.

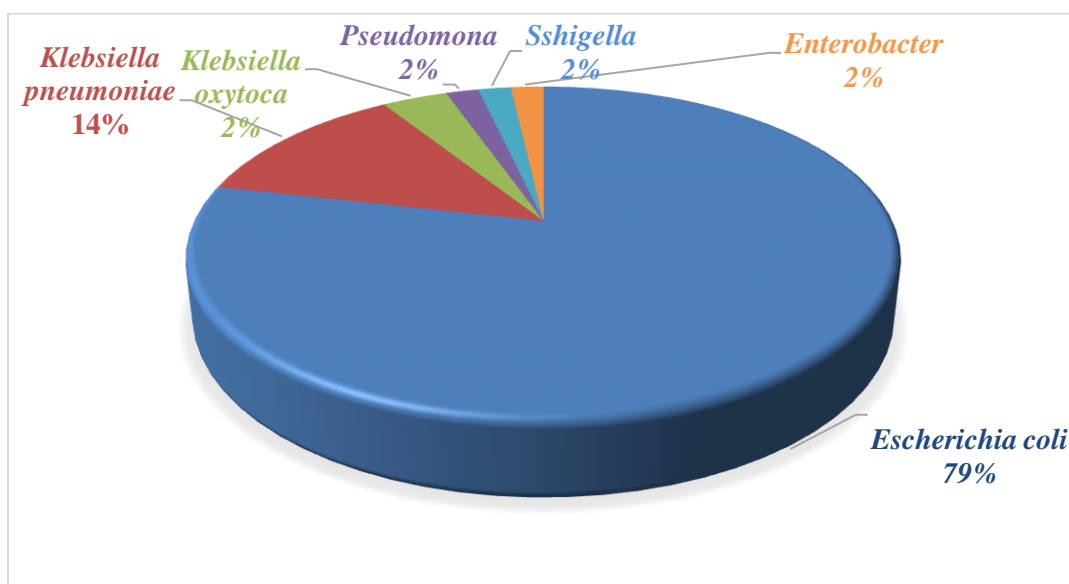


Fig. 2 Porcentaje de especies bacterianas aisladas e identificadas fenotípicamente por bioquímica convencional con sospecha de producción de carbapenemasas

A las 9 cepas identificadas como *Klebsiella spp.* se les realizó la evaluación de la sensibilidad antimicrobiana mediante disco difusión en agar Mueller Hinton como tamizaje de sospecha de ser productoras de carbapenemasas.

La frecuencia de *Klebsiella spp.* productora de carbapenemasas aisladas en flora fecal de preescolares fue del 0%, en la **Tabla 3** se detalla la evaluación de la sensibilidad antibiótica de cada cepa aislada, los microorganismos evaluados demostraron ser sensibles a imipenem y meropenem (ambos carbapenémicos) por lo cual no hubo necesidad de realizar un test confirmatorio de la producción de carbapenemasas.

Tabla 3

Antibiograma de tamizaje para la búsqueda de microorganismos productores de carbapenemasas

Cepa	AMC	FEP	CRO	CAZ	FOX	IMI	MER
A 013	22 mm	29 mm	24 mm	26 mm	24 mm	28 mm	30 mm
B 052	23 mm	25 mm	12 mm	22 mm	22 mm	27 mm	30 mm
C 039	7 mm	32 mm	20 mm	18 mm	6 mm	24 mm	25 mm
D 045	26 mm	32 mm	24 mm	30 mm	26 mm	24 mm	26 mm
E 069	26 mm	25 mm	14 mm	26 mm	26 mm	28 mm	30 mm
F 071	26 mm	28 mm	18 mm	27 mm	26 mm	26 mm	28 mm
G 086	10 mm	30 mm	23 mm	19 mm	9 mm	26 mm	27 mm
H 094	20 mm	21 mm	10 mm	18 mm	20 mm	26 mm	28 mm
I 102	20 mm	22 mm	13 mm	23 mm	23 mm	28 mm	31 mm

AMC: Amoxicilina ácido clavulánico FEP: Cefepime CRO: Ceftriaxona CAZ: Ceftazidima FOX: Cefoxitina IMI:

Imipenem MER: Meropenem. S sensible, I intermedio, R resistente. Fuente: Datos de la investigación.

Tabla 4

Interpretación del antibiograma de tamizaje según CLSI – M100 S28 - 2018

Cepa	AMC	FEP	CRO	CAZ	FOX	IMI	MER
A 013	S	S	S	S	S	S	S
B 052	S	S	R	S	S	S	S
C 039	R	S	I	I	R	S	S
D 045	S	S	S	S	S	S	S
E 069	S	S	R	S	S	S	S
F 071	S	S	R	S	S	S	S
G 086	R	S	S	I	R	S	S
H 094	S	I	R	I	S	S	S
I 102	S	I	R	S	S	S	S

S sensible, I intermedio, R resistente. Fuente: Datos de la investigación.

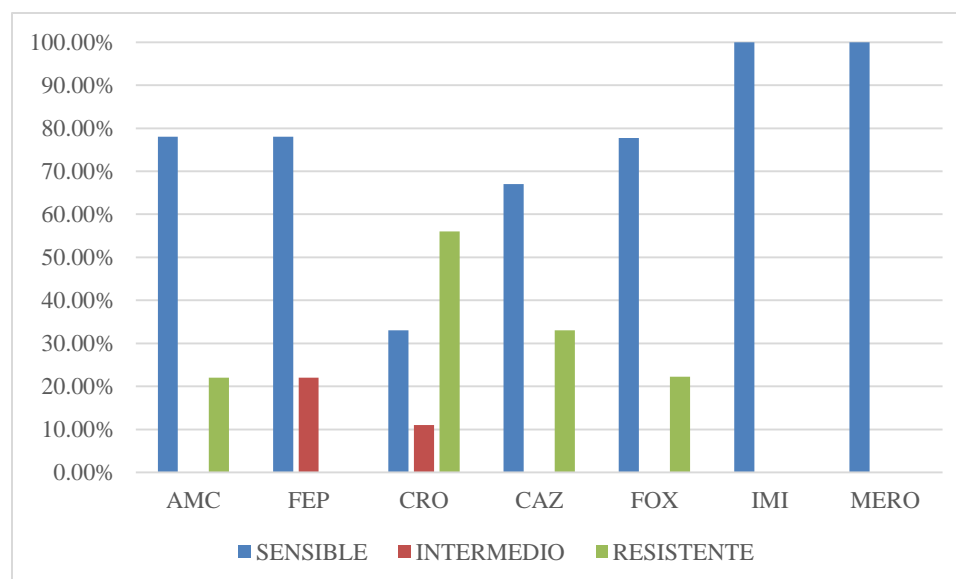


Fig. 4 Interpretación del antibiograma de tamizaje según CLSI – M100 S28 - 2018

De acuerdo a la interpretación del antibiograma se evidencia que el total de cepas es sensible a los carbapenémicos. Los puntos de corte de carbapenémicos (Imipenem, Meropenem): >23mm “sensible”, 20-22mm “indeterminado”, <19mm “Resistente”. Los diámetros de las cepas sospechosas de nuestro estudio estaban entre los 24 mm a 31mm.

Luego de la lectura de estas cepas de *Klebsiella spp.* Se observa que en siete de estas cepas presentan resistencia a cefalosporinas de tercera generación.

Tabla 5

Identificación de cepas de Klebsiella spp. productora de carbapenemasas

<i>Klebsiella spp.</i> Productora de carbapenemasa	N°	%
Producción de carbapenemasa	0	0.00
No producción de carbapenemasa	9	100.00
Total	9	100.00

Fuente: Datos de la investigación

La frecuencia de *Klebsiella spp.* productoras de carbapenemasas en preescolares según sexo y edad es del 0%, pero podemos detallar que aislamos 9 cepas de *Klebsiella spp.* con sospecha de algún mecanismo de resistencia a los antimicrobianos. el 56% fueron aisladas de participantes del género masculino y 44% del género femenino.

Las madres de los 9 participantes donde se asilaron *Klebsiella spp.* con algún mecanismo de resistencia a los antimicrobianos, manifestaron que sus hijos han estado hospitalizados en algún momento de su vida, siendo este un punto importante para la investigación en curso. Donde la

frecuencia de *Klebsiella spp.* productoras de carbapenemasas en preescolares con antecedentes de hospitalización es del 0% debido a que no se hallaron microorganismos del género *Klebsiella spp* resistentes a carbapenémicos.

V. Discusión de los resultados

La resistencia a patógenos gram-negativos va en incremento, con énfasis a múltiples fármacos en enterobacterias. La importancia de mencionar a *Klebsiella spp.* es que se encuentra en el ambiente hospitalario en forma de reservorio en el tracto gastrointestinal, el personal que esta al cuidado de estos. (López 2010). Un factor importante es la adquisición de plásmidos que pueden codificar resistencia (Bush 2010). Lo que requiere estudios de vigilancia para la detección temprana de la colonización por estas bacterias (oteo 2015), afirmación similar a (Bush 2010) donde menciona que la transmisión puede haber disminuido en el ámbito hospitalario, o detectados a tiempo, pero seguirá existiendo como colonizadora.

Nuestra investigación reportó que de las 86 muestras no se aislaron *Klebsiella spp.* productora de carbapenemasa 0%. Discordamos nuestros resultados con información relacionada por (Saleem et al.,2017). donde en bebés sanos se evidenció que el 7.5% fueron positivos a enterobacterias productoras de carbapenemasas, de los cuales éstos pertenecían al género *Klebsiella spp.* pero muy similar mencionado por Gijón et al. (2012) de un total de pacientes entre hospitalizados y no hospitalizados, se identificó como *Klebsiella spp.* productora de carbapenémicos en 11 pacientes (1%), 3 de los cuales eran no hospitalizados.

Davies (2011) demostró en un intervalo de 3 años, hubo un aumento en la incidencia de cepas positivas para la producción de carbapenemasas. En el primer año la incidencia fue de 0,2%, el 2008 2,5% y en el 2009 aumentó hasta 3,4%. Cifra en contraste que se acerca a lo obtenido en nuestro estudio donde detección cepas con producción de carbapenemasa fue de 0%, todas ellas

sensibles a imipenem y meropenem (ambos carbapenémicos), Concordante también con lo mencionado por (Desta et al., 2019) Donde a partir de cepas de enterobacterias productoras de BLEE se evidenciaron cepas productoras de carbapenemasas 2%. Todos detectados en niños, y sólo 2 con *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa (KPC) resistentes a meropenem, ertapenem e imipenem.

Lo descrito por (Pan et al., 2019) se parece a nuestro estudio, donde se evidenció que a nivel hospitalario se encontró una incidencia de 3.6% en enterobacterias productoras de carbapenemasas, además de un 38% que fueron cepas de *Klebsiella pneumoniae*. Semejante también a (Mairi et al., 2019) en una investigación en madres y recién nacidos donde la incidencia mencionada fue de 4,6% y 1,6% respectivamente para cepas de *Klebsiella pneumoniae*.

Así mismo, Sayed et al. (2013) determinó en un hospital de Egipto que, el 2% de las muestras fueron positivos a la producción de carbapenémicos de tipo OXA-48, siendo solo dos de ellos (0.3%), pacientes no hospitalizados. El grupo de pacientes hospitalizados fue de (1.7%) correspondiente a diferentes departamentos del hospital. Cifra discordante con lo mencionado por Rai et al. (2014) que demostró una diferencia, a partir de muestras de heces de pacientes ambulatorios, se halló actividad carbapenemasa en 9.9% de los aislados.

A su vez Gijón et al. (2012) de un total de pacientes entre hospitalizados y no hospitalizados, se identificó como *Klebsiella spp.* productora de carbapenémicos en 11 pacientes (1%), 3 de los cuales eran no hospitalizados.

Así mismo Ramos Castañeda (2018) mostró tasas mortalidad alta relacionada con la infección por *Klebsiella* productora de carbapenemasa con 41%, aún más en pacientes oncológicos con 56%. Semejante a (Chen et al., 2019) donde el 62,5% morían a los 14 días.

En investigaciones recientes como menciona Cedjoe et al. (2018) en aguas residuales de un hospital en China donde se aislaron microorganismos positivos para el gen blaKPC-2 y blaKPC-3 semejante a (Pan et al., 2019). Donde las cepas de *Klebsiella pneumoniae* presentaban en menos porcentaje al gen blaKPC-2.

Consecuentemente, es importante los estudios de vigilancia epidemiológica, donde Davies et al. (2011) presenta en un intervalo de estudio de 3 años, como resultado el aumento de la incidencia de *Klebsiella spp.* productora de carbapenémicos, 0.2% (3/1207) en 2007 a 3.4% (40/1185) 2009.

Es importante mencionar que, al ser cepas provenientes de la comunidad, se evidenció resistencia a medicamentos inhibidores de betalactámicos, cefalosporinas de segunda y tercera generación que son sospechosas de tener algún otro perfil de resistencia y deberían confirmarse con métodos fenotípicos, luego moleculares. Reforzado también por Bush (2010), los microorganismos probablemente seguirán existiendo como colonizadoras en la comunidad general, donde por mecanismos de supervivencia estos se seguirán extendiendo.

VI. Conclusiones

- La frecuencia de *Klebsiella spp.* productora de carbapenemasas aisladas en flora fecal de preescolares de una comunidad de Ancieta, El Agustino en junio del 2018 fue del 0%.
- La frecuencia de *Klebsiella spp.* productoras de carbapenemasas en preescolares según sexo y edad de una comunidad de Ancieta, El Agustino en junio del 2018 es del 0%.
- La frecuencia de *Klebsiella spp.* productoras de carbapenemasas aisladas de preescolares con antecedentes de hospitalización de una comunidad de Ancieta, El Agustino en junio del 2018 es del 0%.
- La frecuencia de de *Klebsiella spp.* resistente a carbapenémicos no productores de carbapenemasas de una comunidad de Ancieta, El Agustino en junio del 2018 fue del 0%.

VII. Recomendaciones

- Es importante mencionar que aún no evidenciamos en la comunidad cepas productoras de carbapenemasas, por lo que es necesario seguir estudios de vigilancia epidemiológica.
- Para investigaciones futuras se recomienda conocer la distribución poblacional general según sexo para evitar el sesgo de selección.
- Se debe plantear estudios en pacientes que presenten como factor de riesgo antecedentes de hospitalización, ya que la resistencia a múltiples antibióticos es evidenciada en infecciones por bacterias intrahospitalarias, incluidas la presencia de enterobacterias productoras de carbapenemasa.
- Es importante hacer la confirmación de enzimas productoras de carbapenémicos mediante métodos fenotípicos y moleculares. Las investigaciones epidemiológicas como la que se realizó, no son muy difundidas en nuestro medio por tal motivo deberían de realizarse con mayor frecuencia, hallando así portadores asintomáticos de microorganismos con algún mecanismo de resistencia a los antimicrobianos y aplicar medidas de salud pública para evitar la constante diseminación de este tipo de microorganismo.

VIII. Referencias

- Bedenić B., Plečko V., Sardelić S., Uzunović S. & Godić Torkar K. (2014) Carbapenemases in gram-negative bacteria: laboratory detection and clinical significance. *BioMed research international*.
{<https://search.proquest.com/openview/2ad44dc3053e9ec41f72eaadc940cda9/1?pq-origsite=gscholar&cbl=237798>}
- Bush K. (2010). Alarming β -lactamase-mediated resistance in multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*. *Current opinion in microbiology*, 13(5):558-564.
{<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369527410001335>}
- Bush K. (2013) Carbapenemases: partners in crime. *Journal of global antimicrobial resistance*, 1(1):7-16.
{[https://www.jgaronline.com/article/S2213-7165\(13\)00006-4/abstract](https://www.jgaronline.com/article/S2213-7165(13)00006-4/abstract)}
- Cano, M. E., Ezpeleta, C., Padilla, B., de Arellano, E. R., & Martínez-Martínez, L. (2008). Cultivos de vigilancia epidemiológica de bacterias resistentes a los antimicrobianos de interés nosocomial. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 26(4), 220-229.
{<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X08726946>}
- Cedjoe F. & Donkor E. (2017) Carbapenem Resistance: A Review. *Medical Sciences*, 6(1):1.
{<http://www.mdpi.com/2076-3271/6/1/1>}
- Chen, W. K., Yang, Y., & Tan, B. H. (2019). Increased Mortality Among Carbapenemase-Producing Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* Carriers Who Developed Clinical Isolates of Another Genotype. *Open forum infectious diseases*, 6(2), ofz006.
doi:10.1093/ofid/ofz006

- Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI (2018) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Davies T., Marie Queenan A., Morrow B., Shang W., Amsler K., He W. & Flamm R. (2011) Longitudinal survey of carbapenem resistance and resistance mechanisms in *Enterobacteriaceae* and non-fermenters from the USA in 2007–09. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 66(10):2298-2307.
{<https://academic.oup.com/jac/article/66/10/2298/731806>}
- Desta, K., Woldeamanuel, Y., Azazh, A., Mohammad, H., Desalegn, D., Shimelis, D., Aklillu, E. (2016). High Gastrointestinal Colonization Rate with Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Hospitalized Patients: Emergence of Carbapenemase-Producing *K. pneumoniae* in Ethiopia. *PloS one*, 11(8), e0161685.
doi: 10.1371/journal.pone.0161685
- De Jesus M., Ehlers M., Dos Santos F. & Kock M. (2015) Understanding β -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae*. In Antimicrobial Resistance. *An Open Challenge*.
{<https://www.intechopen.com/books/antimicrobial-resistance-an-open-challenge/review-understanding-lactamase-producing-klebsiella-pneumoniae>}
- Drancourt M, Bollet C, Carta A & Rousselier P. (2001) Phylogenetic analysis of *Klebsiella* species delineate *Klebsiella* and *Raoultella* gen. nov., with description of *Raoultella ornithinolytica* comb. nov., *Raoultella terrigena* comb. nov., and *Raoultella planticola* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51:925–932.

{<http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-51-3-925>}

Gijón D., Curiao T., Baquero F., Coque T. & Cantón R. (2012) Fecal Carriage of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae*: A Hidden Reservoir in Hospitalized and Non hospitalized Patients. *Journal Clinical Microbiology*, 50 (5):1558-1563.

{<http://jcm.asm.org/content/50/5/1558.full>}

Gil, L. P. (2012). La resistencia a antibióticos: El efecto colateral. *Horizonte Sanitario*, 11(1):24-31.

{ <http://revistas.ujat.mx/index.php/horizonte/article/view/108>}

Instituto Nacional de Salud – INS (2001) Manual de procedimientos bacteriológicos en infecciones intrahospitalarias. INS – Lima, Perú: Ministerio de Salud: 43-55.

Jawetz, Melnick & Adelberg, (2015) Microbiología Médica de Jawetz. 25° ed. México: Editorial Manual Moderno. 3:214

Koneman, E. & Allen, S. (1999) Diagnostico Microbiológico. (5° edición). Buenos Aires – Argentina: Editorial Médica Panamericana.

López J. & Echeverri L. (2010) *K. pneumoniae*: ¿la nueva "superbacteria"? Patogenicidad, epidemiología y mecanismos de resistencia. *Iatreia*, 23(2):157-165.

{http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-07932010000200007}

Mairi A., Touati A., Ait Bessai S., Boutabtoub Y., Khelifi F., Sotto A., Lavigne J.-P., Pantel A. (2019) American Journal of Infection Control, 47 (1), pp. 105-108.

- Martínez-Martínez L., & González-López J. (2014) Carbapenemases in *Enterobacteriaceae*: types and molecular epidemiology. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 32:4-9.
{ <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X14701685> }
- Mathers A., Peirano G. & Pitout J. (2015) The role of epidemic resistance plasmids and international high-risk clones in the spread of multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*. *Clinical microbiology reviews*, 28(3):565-591.
{ <http://cmr.asm.org/content/28/3/565.short> }
- Nordmann P., Naas T. & Poirel L. (2011) Global spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerging infectious diseases*, 17(10):1791.
{ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3310682/> }
- Oteo J., Bou G., Chaves F. & Oliver A. (2017) Microbiological methods for surveillance of carrier status of multiresistant bacteria. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica (English ed.)*, 35(10):667-675
{ <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X16000306> }
- Pan, F., Tian, D., Wang, B., Zhao, W., Qin, H., Zhang, T., & Zhang, H. (2019). Fecal carriage and molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* from outpatient children in Shanghai. *BMC infectious diseases*, 19(1), 678.
doi:10.1186/s12879-019-4298-3
- Paton R., Miles R., Hood J. & Amyes S. (1993) ARI 1: β -lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *International journal of antimicrobial agents*, 2(2):81-87.
{ <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0924857993900457> }

- Podschun R & Ullmann U. (1998) *Klebsiella spp.* as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods and pathogenicity factors. *Clinical microbiology reviews* 11(4):589–603.
{ <http://cmr.asm.org/content/11/4/589.short> }
- Quale J., Bratu S., Gupta J. & Landman D. (2006) Interplay of efflux system, ampC, and oprD expression in carbapenem resistance of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 50(5):1633-1641.
{ <http://aac.asm.org/content/50/5/1633.short> }
- Queenan A., Torres-Viera C., Gold H., Carmeli Y., Eliopoulos G., Moellering R. & Bush K. (2000) SME-type carbapenem-hydrolyzing class A β -lactamases from geographically diverse *Serratia marcescens* strains. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 44(11):3035-3039.
{ <http://aac.asm.org/content/44/11/3035.short> }
- Queenan A & Bush K. (2007) Carbapenemases: the versatile β -lactamases. *Clinical microbiology reviews*, 20(3):440-458.
{ <http://cmr.asm.org/content/20/3/440.short> }
- Rai S., Das D., Niranjana D., Singh, N. & Kaur I. (2014) Carriage prevalence of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in stool samples: A surveillance study. *The Australasian Medical Journal*, 7(2):64–67.
{ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3941578/> }
- Ramos-Castañeda J., Ruano-Ravina A., Barbosa-Lorenzo R., Paillier-Gonzalez J., Saldaña-Campos, J., Salinas, D. & Lemos-Luengas E. (2018) Mortality due to KPC carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* infections: Systematic review and meta-analysis: Mortality due to KPC *Klebsiella pneumoniae* infections. *Journal of*

Infection, 76(5):438-448.

{[https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453\(18\)30060-4/abstract](https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453(18)30060-4/abstract)}

Rasmussen B., Bush K., Keeney D., Yang Y., Hare R., O'Gara C. & Medeiros A. (1996)

Characterization of IMI-1 beta-lactamase, a class A carbapenem-hydrolyzing enzyme from *Enterobacter cloacae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 40(9):2080-2086.

{<http://aac.asm.org/content/40/9/2080.short>}

Resurrección-Delgado C., Montenegro-Idrogo J., Chiappe-Gonzalez A., Vargas-Gonzales R.,

Cucho-Espinoza C., Mamani-Condori D. & Huaroto-Valdivia L. M. (2017) *Klebsiella pneumoniae* nueva Delhi metalo-betalactamasa en el hospital nacional Dos de Mayo. Lima, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 34:261-267.

{<https://www.scielo.org/article/rpmesp/2017.v34n2/261-267/es/>}

Rodríguez-Martínez J., Poirel L. & Nordmann P. (2009) Molecular epidemiology and

mechanisms of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(11): 4783-4788.

{<http://aac.asm.org/content/53/11/4783.short>}

Rodríguez J., Ramón J., Álvarez L., Asensio A., Calbo E., Cercenado E., Cisneros J., Cobo J.,

Delgado O., Garnacho J., Grau S., Horcajada J, Hornero A., Murillas J., Oliver A., Padilla B., Pasquau J, Pujol J., Ruiz P., San Juan R. & Sierra R. (2012) Programas de optimización de uso de antimicrobianos (PROA) en hospitales españoles: documento de consenso GEIH-SEIMC, SEFH y SEMPSPH, Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 30(1): 22.e1-22.e23

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.09.018>.

{ <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X11003259>}

- Saleem A., Allana A., Hale L., Qureshi S. M., Hotwani A., Rahman, N. & Arshad, M. (2017) The Gut Microbiota of Healthy Infants in the Community is a Reservoir for ESBL and Carbapenemase Producing Bacteria. *Open Forum Infectious Diseases*, 4(Suppl 1), S48.
{ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5632106/>}
- Sayed A. M., Behiry I. K., Elsherief R. H. & Elsir S. A. (2017) Detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in rectal surveillance cultures in non-hospitalized patients. *Journal of Analytical Science and Technology*, 8(1):4.
{ <https://link.springer.com/article/10.1186/s40543-017-0114-0>}
- Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica – SEIMC (2007) Cultivo de vigilancia epidemiológica de bacterias resistentes a los antimicrobianos de interés nosocomial. SEIMC – ESPAÑA: 8-12.
- Török M., Chapman A., Lessing M., Sanderson F. & Seaton R. (2010) Outpatient parenteral antimicrobial therapy: Recent developments and future prospects. *Current opinion in investigational drugs*, 11(8):929-939.
{ <http://europepmc.org/abstract/med/20721835>}
- Van Duin D., Perez F., Rudin S., Cober E., Hanrahan J., Ziegler J. & Cline M. (2014) Surveillance of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: tracking molecular epidemiology and outcomes through a regional network. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(7):4035-4041.
{ <http://aac.asm.org/content/58/7/4035.short>}
- Velásquez J., Hernández R., Pamo O., Candiotti M., Pinedo Y., Sacsquispe R. & Fernández N. (2013) *Klebsiella pneumoniae* resistente a los carbapenemes. Primer caso de

carbapenemasa tipo KPC en Perú. *Revista de la Sociedad Peruana de Medicina Interna*, 26(4):192-196.

{ <http://medicinainterna.org.pe/pdf/2013/vol26num4/reporte%20de%20caso.pdf> }

World Health Organization (2014) Antimicrobial resistance: global report on surveillance.

World Health Organization.

{ http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748_eng.pdf;jsessionid=C3FB07D5BC582830D8949FE8C8FBA34F?sequence=1 }

Yagui M. (2018) Resistencia antimicrobiana: nuevo enfoque y oportunidad. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 35(1):7-8.

{ <http://www.rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/viewFile/3594/299> }

Yigit H., Queenan A., Rasheed J., Biddle J., Domenech-Sanchez A., Alberti S. & Tenover F.

(2003) Carbapenem-resistant strain of *Klebsiella oxytoca* harboring carbapenem-hydrolyzing β -lactamase KPC-2. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 47(12):3881-3889.

{ <http://aac.asm.org/content/47/12/3881.short> }

IX. Anexos

Anexo 1. matriz de consistencia del proyecto “frecuencia de *Klebsiella spp* productoras de carbapenemasas aisladas de flora fecal de preescolares”

PROBLEMA	OBJETIVOS	IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES	METODOLOGÍA	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS
<p>GENERAL</p> <ul style="list-style-type: none"> • ¿Cuál es la frecuencia de <i>Klebsiella spp.</i> productora de Carbapenemasas aisladas en flora fecal de preescolares en una comunidad de El Agustino junio 2018? <p>ESPECIFICA</p> <ul style="list-style-type: none"> • ¿Cuál es la frecuencia de <i>Klebsiella spp.</i> productora de Carbapenemasas aisladas en preescolares según sexo en una comunidad de El Agustino junio 2018? • ¿Cuál es la frecuencia de <i>Klebsiella spp.</i> productora de Carbapenemasas aisladas en preescolares con antecedentes de hospitalización? • ¿Cuál es la frecuencia de <i>Klebsiella spp.</i> resistente a carbapenémicos no productoras de carbapenemasas aisladas en flora fecal de preescolares? 	<p>GENERAL</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar la frecuencia de <i>Klebsiella spp.</i> productora de Carbapenemasas aisladas en flora fecal de preescolares en una comunidad de El Agustino junio 2018. <p>ESPECIFICA</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar la frecuencia de <i>Klebsiella spp.</i> productora de Carbapenemasas aisladas en preescolares según sexo en una comunidad de El Agustino junio 2018. • Determinar la frecuencia de <i>Klebsiella spp.</i> productora de Carbapenemasas aisladas en preescolares con antecedentes de hospitalización. • Determinar la frecuencia de <i>Klebsiella spp.</i> resistente a carbapenémicos no productoras de carbapenemasas aisladas en flora fecal de preescolares. 	<ul style="list-style-type: none"> • Frecuencia de <i>Klebsiella spp.</i> • Producción de carbapenemasas 	<p>Investigación de tipo cuantitativa descriptiva, prospectiva de corte transversal</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Cultivo de vigilancia epidemiológica de bacterias resistentes a los antimicrobianos de interés nosocomial de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). • Método Modificado de Inactivación de Carbapenémicos para Enterobacterias y <i>P. aeruginosa</i> sospechosas de producción de carbapenemasas (M100-S28) de la CLSI (2018). • Evaluación fenotípica de la sensibilidad a carbapenémicos según los criterios del documento “Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty- Eighth Informational Supplement” (Normas de Desempeño para las Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana; Suplementos Informativos Veintiocho) (M100-S28) de la CLSI (2018).

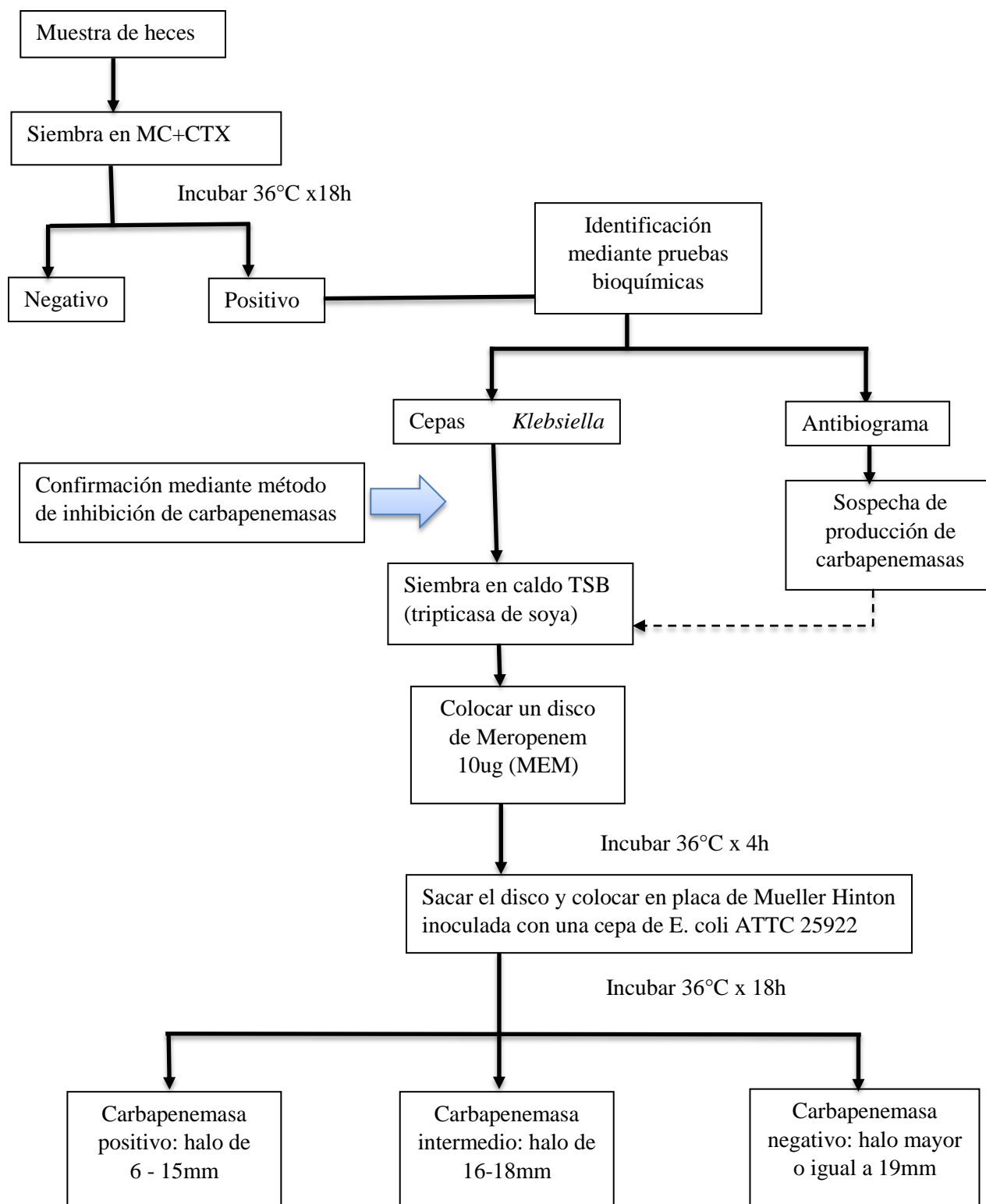
Anexo 2. Ficha epidemiológica para los casos de *Klebsiella spp* productoras de carbapenemasas aisladas de flora fecal de preescolares

DATOS DEL NIÑO			
Apellido Paterno:			
Apellido Materno:			
Nombres:			
Sexo:	F	M	Fecha de nacimiento: ___ / ___ / ____ Edad:
DATOS DEL PADRE/MADRE			
Apellido Paterno:			
Apellido Materno:			
Nombres:			
Edad:			
Dirección:			
Distrito:		Provincia:	Departamento:
Evaluación socioeconómica:		Bajo <input type="checkbox"/>	Medio <input type="checkbox"/> Alto <input type="checkbox"/>
Centro de salud en que se atiende el participante:			
ANTECEDENTES CLINICOS DEL NIÑO (ANAMNESIS)			
Participante asintomático:		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Síntomas en los últimos 7 días:			
1. Fiebre		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
2. Diarrea		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
3. Malestar estomacal		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
4. Nauseas		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
5. Vómitos		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Enfermedad actual:			
Consumo de medicamentos actualmente:		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
¿Qué medicamento?			
Antecedentes de enfermedad diarreica:		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Tratamiento de enfermedad diarreica:		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
¿Qué medicamento uso?			
Antecedentes de hospitalización:		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Motivo:			
IDENTIFICACION DE FACTORES DE RIESGO			
Lavado de manos del niño			
1. Antes de comer		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
2. Después de ir al baño		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
3. Después de jugar con su mascota		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Lavado adecuado de alimentos		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Piso de la vivienda		Tierra <input type="checkbox"/>	Concreto <input type="checkbox"/>
Agua potable		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Eliminación de excretas		Baño <input type="checkbox"/>	Silo <input type="checkbox"/> Otros <input type="checkbox"/>

Anexo 3. Ficha de recolección de datos de muestras analizadas

MUESTRA N°:	001					
I. RECOLECCIÓN DE MUESTRA						
FECHA DE RECOLECCIÓN	08/06/2018	HORA DE RECOLECCIÓN			10:00 am	
LUGAR:						
EDAD:		SEXO:				
TIPO DE MUESTRA:	HECES					
II. SIEMBRA DE LA MUESTRA						
CRECIMIENTO EN MEDIO SELECTIVO (MacConkey + CEFOTAXIMA)				SI		NO
CRECIMIENTO	LACTOSA +			COLONIAS SOSPECHOSAS		
BIOQUÍMICA CONVENCIONAL	CITRATO	TSI	SIM	H2S	GAS	RM
III. PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA (MÉTODO DISCO DIFUSIÓN)						
ANTIBIÓTI CO	DIÁMETRO	INTERPRE-TACIÓN	ANTIBIÓTI CO	DIÁMETRO	INTERPRE-TACIÓN	
IMI			MEM			
IV. EVALUACIÓN DE LA PRODUCCION DE CARBAPENEMASAS (MÉTODO MODIFICADO DE INACTIVACION DE CARBAPENÉMICOS)						
CARBAPENEMASA POSITIVO		CARBAPENEMASA NEGATIVO			CARBAPENEMASA INTERMEDIA	
[]		[]			[]	
CONCLUSIONES						

Anexo 4. Flujograma de trabajo de la “frecuencia de *Klebsiella spp* productoras de carbapenemasas aisladas de flora fecal de preescolares”



Anexo 5. Puntos de corte estandarizados para enterobacterias según CLSI – M100 S28 -

2018

Antibiótico	Sensible	Intermedio	Resistente
Meropenem	≥ 23 mm	20-22 mm	≤ 19 mm
Imipenem	≥ 23 mm	20-22 mm	≤ 19 mm
Cefepime	≥ 25 mm	19-24 mm	≤ 18 mm
Cefoxitina	≥ 18 mm	15-17 mm	≤ 14 mm
Ceftriaxona	≥ 23 mm	20-22 mm	≤ 19 mm
Ceftazidima	≥ 21 mm	18-20 mm	≤ 17 mm
Amoxic. Ac. clavulánico	≥ 18 mm	14-17 mm	≤ 13 mm

Anexo 6. Términos de referencia

- **Flora fecal.** Microflora, microbiota intestinal se conoce a la colonización de bacterias que habitan en el tracto intestinal que cumplen diferentes funciones, que están influenciadas por factores externos, nutrición entre otros. Gómez Duque et al (2011).
- **Preescolares.** Infantes que se encuentran en el proceso educativo que antecede a la escuela primaria.
- **Enterobacterias.** Bacterias pertenecientes a la familia enterobacteriaceae, son bacilos gram-negativo, coloniza generalmente al intestino del ser humano y de otras especies de animales.
- ***Klebsiella spp.*** son bacilos gram-negativos inmóviles, fermentador de lactosa, generalmente causante de infecciones y susceptible a adquirir resistencia a antibióticos.
- **Carbapenémicos.** Son un tipo de antibióticos betalactámicos de amplio espectro con actividad bactericida. Estos antibióticos derivan de la tienamicina producida por el microorganismo *Streptomyces catleya*.
- **Carbapenemasas.** Enzimas de la familia de las betalactamasas, que, al ser producido por las bacterias, confieren resistencia a antibióticos carbapenémicos.
- **Cultivo epidemiológico.** cultivos de vigilancia epidemiológica sirven conocer el problema de la multirresistencia en un centro o en una unidad, pues la información que puede inferirse de los resultados de los cultivos de muestras clínicas.

Anexo 7. Test de disco de difusión para las cepas de *Klebsiella* spp.

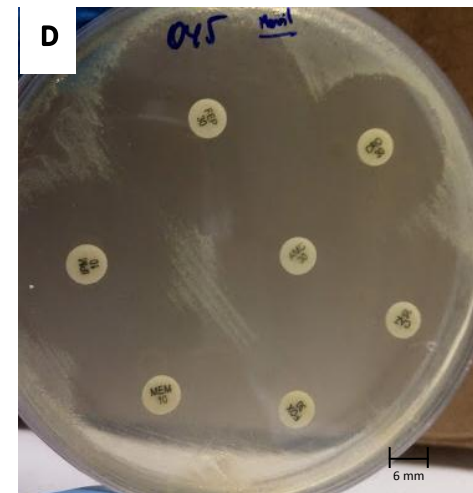
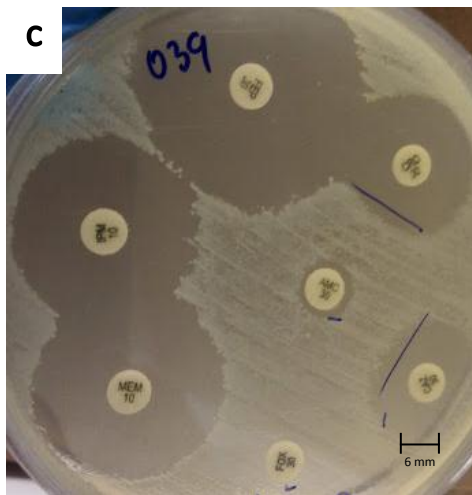
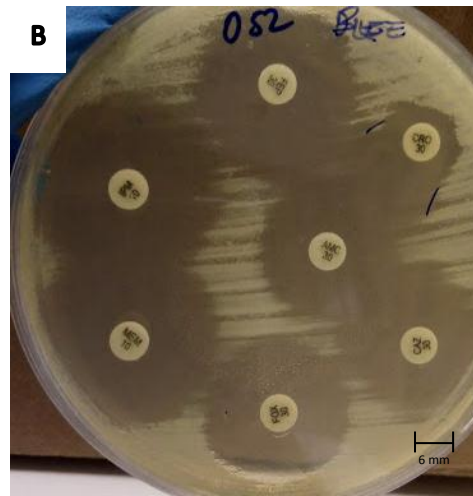
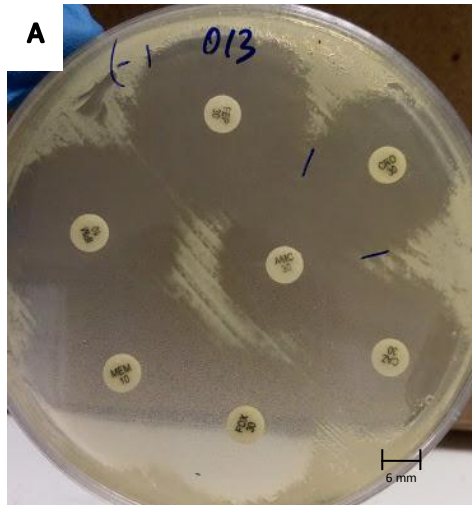
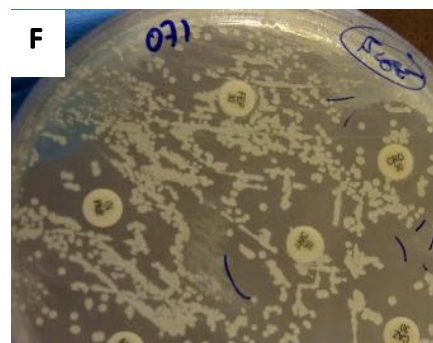


Fig. A cepa 013 *Klebsiella pneumoniae*, **Fig. B** cepa 013 *Klebsiella pneumoniae*, **Fig. C** cepa 039 *Klebsiella pneumoniae*, **Fig. D** cepa 045 *Klebsiella pneumoniae*.



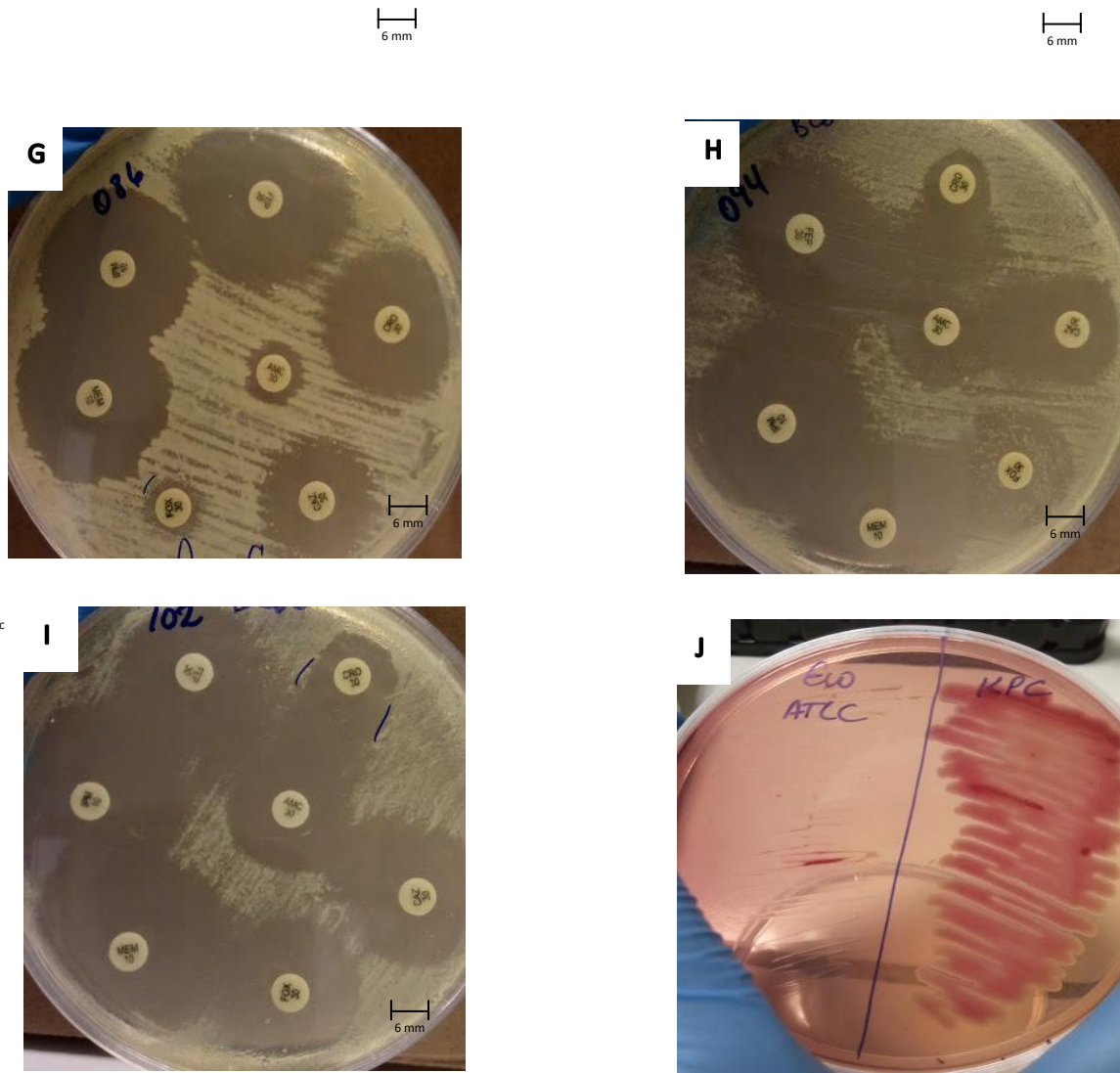


Fig. E cepa 069 *Klebsiella pneumoniae*, **Fig. F** cepa 071 *Klebsiella pneumoniae*, **Fig. G** cepa 086 *Klebsiella pneumoniae*, **Fig. H** cepa 094 *Klebsiella oxytoca*. **Fig. I** cepa 102 *Klebsiella pneumoniae*. **Fig. J** control de calidad del medio MacConkey suplementado con una cefalosporina. *E. coli* ATCC 25922 y una cepa productora de carbapenemasa KPC