

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



TESIS

**IDENTIFICACIÓN FENOTÍPICA Y POR PCR DE
CARBAPENEMASAS TIPO A, B Y D EN CEPAS DE *Pseudomonas
aeruginosa* PROPORCIONADAS POR EL HOSPITAL ANTONIO
LORENA DE CUSCO, 2025**

PRESENTADO POR:

Br. WENDY LEIDY BORDA CASTILLA

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL
DE BIÓLOGO**

ASESORA:

Mgt. ELSA GLADYS AGUILAR ANCORI

CUSCO-PERÚ

2026



Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-321-2025-UNSAAC)

El que suscribe, el Asesor ELSA GLADYS AGUILAR ANCORI
..... quien aplica el software de detección de similitud al
trabajo de investigación/tesis titulada: IDENTIFICACIÓN FENOTÍPICA Y POR PCR
DE CARBAPENEMASAS TIPO A, B Y D EN CEPAS DE Pseudomonas aeruginosa
PROPORCIONADAS POR EL HOSPITAL ANTONIO LORENA DE CUSCO, 2025

Presentado por: WENDY LEIDY BORDA CASTILLA DNI N° 75927732;
presentado por: DNI N°:
Para optar el título Profesional/Grado Académico de BIÓLOGO

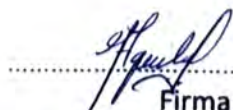
Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 02 veces, mediante el
Software de Similitud, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso del Sistema Detección de**
Similitud en la UNSAAC y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 7 %.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No sobrepasa el porcentaje aceptado de similitud.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las subsanaciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, conforme al reglamento, quien a su vez eleva el informe al Vicerrectorado de Investigación para que tome las acciones correspondientes; Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de Asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto las primeras páginas del reporte del Sistema de Detección de Similitud.

Cusco, 16 de Julio de 2026


Firma

Post firma ELSA GLADYS AGUILAR ANCORI

Nro. de DNI 23859957

ORCID del Asesor 0000-0002-8942-8868

Se adjunta:

- Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
- Enlace del Reporte Generado por el Sistema de Detección de Similitud: old: 27259:608327602

Wendy Leidy Borda Castilla

IDENTIFICACIÓN FENOTÍPICA Y POR PCR DE CARBAPENEMASAS TIPO A, B Y D EN CEPAS DE Pseudomonas...

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:608327602

Fecha de entrega

16 jul 2026, 7:56 p.m. GMT-5

Fecha de descarga

16 jul 2026, 7:58 p.m. GMT-5

Nombre del archivo

IDENTIFICACIÓN FENOTÍPICA Y POR PCR DE CARBAPENEMASAS TIPO A, B Y D EN CEPAS DE Pseud....pdf

Tamaño del archivo

2.6 MB

120 páginas

24.410 palabras

142.976 caracteres

7% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Fuentes principales

- 6%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 5%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIA

A Dios, por guiar mis pasos con sabiduría y darme fortaleza para no rendirme ante momentos difíciles.

A mi madre Clara, quien con su amor constante y su fortaleza me enseñó que los sueños se alcanzan con paciencia, trabajo y fé; a mi padre Cirilo, por su amor incondicional y apoyo constante a lo largo de mi formación; y a Bernardino, a quien la vida me regaló como un segundo padre, por su amor, apoyo incondicional y su presencia constante desde mi infancia.

A mis hermanos Leonel y Edwin, por su amor fraternal y por estar siempre presentes en los momentos mas importantes de mi vida. A Lili, por su compañía y amor incondicional.

A Diego, por su apoyo constante, su paciencia y por motivarme a seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco y a la Facultad de Ciencias Biológicas, por su aporte a mi formación académica.

A mi asesora, la M.Sc. Elsa Gladys Aguilar Ancori, por su dedicación, paciencia, compromiso y apoyo constante, así como por compartir sus conocimientos y guiarme durante todo el proceso de investigación.

A mi co-asesora, la Blga. Jimena Edith Pino Dueñas, por su apoyo incondicional durante el trabajo de campo en el hospital, su paciencia, dedicación y compromiso, así como por compartir generosamente sus conocimientos y experiencia, contribuyendo al desarrollo de esta tesis.

A la M.Sc. Marishani Marin, M.Sc. Mayday Stasey Soto y la Blga. Duly Nuñez por su orientación, valiosos aportes y constante apoyo durante el desarrollo de la tesis.

A los Blgos. David, Yeni y Angel integrantes del Laboratorio de Microbiología del Hospital Antonio Lorena, por su apoyo y orientación durante esta investigación.

Al Laboratorio Institucional de Investigación en Microbiología e Inmunología, por acogerme en sus instalaciones y brindarme las facilidades para desarrollar este trabajo, así como también a todos sus integrantes Shamira, Aron, Romario, Joaquin y Daniela por su apoyo y su amistad.

A mi amigo Raúl, por sus palabras de aliento y apoyo moral para superar los retos.

A mis compañeras de trabajo: Cristina, Fely, Luciana, Soledad y Lisbeth por su colaboración y sus consejos.

ÍNDICE

RESUMEN	I
INTRODUCCIÓN.....	II
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	III
JUSTIFICACIÓN	IV
OBJETIVOS.....	V
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	1
1.1. Antecedentes	1
1.1.1. Antecedentes internacionales.....	1
1.1.2. Antecedentes nacionales	4
1.1.3. Antecedentes locales	6
1.2. Descripción de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
1.2.1. Ubicación taxonómica de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
1.2.2. Contexto histórico y clínico de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
1.2.3. Características biológicas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8
1.2.4. Morfología de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
1.2.5. Características moleculares de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
1.2.6. Características ecológicas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
1.2.7. Patogenicidad de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
1.2.8. Factores de virulencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
1.2.9. Mecanismos de resistencia antibiótica de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ...	13

1.3.	Carbapenemasas	15
1.3.1.	Clasificación según Ambler	15
1.4.	Identificación fenotípica	21
1.4.1.	Detección de carbapenemasas de tipo A por el test de ácido borónico..	22
1.4.2.	Detección de Metallo- β -lactamasas por el método de doble disco con EDTA.....	22
1.4.3.	Detección de Carbapenemasas tipo D por la prueba de Carba NP.	23
1.5.	PCR convencional	23
1.5.1.	Estructura genómica de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS		25
2.1.	Área de procedencia de las cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
2.2.	Área de procesamiento de las cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . ..	27
2.2.1.	Material biológico	27
2.2.2.	Material de laboratorio.....	27
2.3.	Tipo de investigación	30
2.4.	Consideraciones éticas	31
2.5.	Métodos y fundamentos	31
2.5.1.	Coordinación institucional	31
2.5.2.	Protocolo de identificación de cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31
2.5.3.	Protocolo de identificación fenotípica de carbapenemasas en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34

2.5.4. Protocolo para la identificación genotípica de carbapenemasas en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
3.1 Identificación de cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> proporcionadas por el Hospital Antonio Lorena.....	47
3.2 Identificación de cepas portadoras de carbapenemasas en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50
3.3 Identificación fenotípica de carbapenemasas en cepas <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	53
3.4 Identificación genotípica por PCR convencional de genes de resistencia en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	59
3.4.1 Detección del gen <i>bla_{KPC}</i> en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	59
3.4.2 Detección del gen <i>bla_{IMP}</i> en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	62
3.4.3 Detección del gen <i>bla_{VIM}</i> en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	71
3.4.4 Detección del gen <i>bla_{NDM}</i> en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	72
3.4.5 Detección del gen <i>bla_{OXA-48}</i> en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	73
CONCLUSIONES.....	75
RECOMENDACIONES	76
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
ANEXOS.....	93

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
Figura 2 Tipos de resistencia antimicrobiana de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13
Figura 3 Mapa de Ubicación del Hospital Antonio Lorena	26
Figura 4 Disposición de discos en la prueba de sinergia con ácido borónico de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
Figura 5 Detección fenotípica para Carbapenemasa tipo A	36
Figura 6 Esquema del método de la Prueba de doble disco con EDTA en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	38
Figura 7 Detección fenotípica de Metallo- β -lactamasas en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	38
Figura 8 Procedimiento del test Carba NP para <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
Figura 9 Preparación de muestras para PCR en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
Figura 10 Procedimiento del método de Boiling para el gen <i>bla</i> _{OXA-48} de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44
Figura 11 Crecimiento bacteriano en Agar Cetrimide de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ...	48
Figura 12 Crecimiento bacteriano en Agar MacConkey de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48
Figura 13 Resultado de las pruebas de diferenciación bioquímica de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	49
Figura 14 Fluorescencia en Agar Cetrimide bajo luz ultravioleta de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	49
Figura 15 Perfil de resistencia antimicrobiana de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	51
Figura 16 Distribución porcentual de la identificación fenotípica de carbapenemasas en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54
Figura 17 Detección de carbapenemasas tipo A por la prueba de sinergia con ácido borónico en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	55
Figura 18 Detección de carbapenemasas tipo B por la prueba de doble disco con EDTA en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	55
Figura 19 Prueba de Carba NP para la detección de carbapenemasas tipo D en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58
Figura 20 Prueba de Carba NP para la detección de carbapenemasas tipo B en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58
Figura 21 Electroforesis del producto de amplificación del gen <i>bla</i> _{KPC} en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	60

Figura 22 Fenotipo compatible con la producción de AmpC inducible en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	62
Figura 23 Electroforesis del producto de amplificación del gen <i>bla_{IMP}</i> en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	65
Figura 24 Ecuación para la estimación de la medición de bandas amplificadas en el primer gel <i>bla_{IMP}</i>	66
Figura 25 Electroforesis del producto de amplificación del gen <i>bla_{IMP}</i> en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	67
Figura 26 Ecuación para la estimación de la medición de bandas amplificadas en el segundo gel <i>bla_{IMP}</i>	68
Figura 27 Electroforesis del producto de amplificación del gen <i>bla_{IMP}</i> en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	69
Figura 28 Ecuación para la estimación de la medición de bandas amplificadas en el tercer gel <i>bla_{IMP}</i>	70
Figura 29 Electroforesis del producto de amplificación del gen <i>bla_{VIM}</i> en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	71
Figura 30 Electroforesis del producto de amplificación del gen <i>bla_{NDM}</i> en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	72
Figura 31 Electroforesis del producto de amplificación del gen <i>bla_{OXA-48}</i> en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Operacionalización de variables	6
Tabla 2 Criterios de interpretación por color en el test carba NP para <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
Tabla 3 Master mix para la identificación de los genes <i>bla_{KPC}</i> , <i>bla_{VIM}</i> , <i>bla_{NDM}</i> , <i>bla_{IMP}</i> en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	42
Tabla 4 Master mix para la identificación de los genes <i>bla_{OXA-48}</i> para <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44
Tabla 5 Condiciones de amplificación	45
Tabla 6 Perfil de resistencia antimicrobiana de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50
Tabla 7 Análisis descriptivo de identificación fenotípica de carbapenemasas en cepas <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54
Tabla 8 Análisis descriptivo de identificación genotípica de carbapenemasas en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	59
Tabla 9 Calibración de la resolución de bandas del marcador molecular de electroforesis para el primer gel <i>bla_{IMP}</i>	65
Tabla 10 Estimación de bandas amplificadas del gen <i>bla_{IMP}</i> en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gel 1).....	66
Tabla 11 Calibración de la resolución de bandas del marcador molecular de electroforesis para el segundo gel <i>bla_{IMP}</i>	67
Tabla 12 Estimación de bandas amplificadas del gen <i>bla_{IMP}</i> en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gel 2).....	68
Tabla 13 Calibración de la resolución de bandas del marcador molecular de electroforesis para el tercer gel <i>bla_{IMP}</i>	69
Tabla 14 Estimación de bandas amplificadas del gen <i>bla_{IMP}</i> en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gel 3).....	70

RESUMEN

Pseudomonas aeruginosa es considerada un patógeno oportunista crítico, en el ámbito hospitalario debido a su gran capacidad de adaptación y supervivencia en ambientes con alta presión selectiva por el uso de antimicrobianos. Esta resistencia se ve potenciada por la producción de carbapenemasas, las cuales son consideradas como un mecanismo de resistencia importante, que representa un gran desafío en la actualidad al limitar las opciones terapéuticas. En este marco, el estudio tuvo como objetivo identificar la presencia de carbapenemasas de tipo A, B y D en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* proporcionadas por el Hospital Antonio Lorena de Cusco, a través de pruebas fenotípicas y genotípicas empleando la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) convencional. Se evaluaron 37 cepas disponibles correspondientes a la totalidad de aislamientos del periodo abril-junio, confirmándose todas como *Pseudomonas aeruginosa*. De estas, el 86,5% fueron resistentes a Imipenem y Meropenem; mediante pruebas fenotípicas se identificaron que las cepas presentan Carbapenemasas tipo A en el 18,9%, Carbapenemasas tipo B en el 89,2%, mientras que el 100% resultó negativo para las Carbapenemasas tipo D. Mediante PCR convencional se logró identificar el gen *bla_{IMP}* en el 67.6% de cepas evaluadas. Se concluye que el gen *bla_{IMP}* constituye el principal mecanismo molecular asociado a la resistencia a carbapenémicos en las cepas estudiadas.

Palabras claves: *Pseudomonas aeruginosa*, Multidrogorresistente, Carbapenemasas, Prueba fenotípica, PCR convencional.

INTRODUCCIÓN

Las Carbapenemasas se consideran uno de los mecanismos de resistencia antibacteriana más importantes en los bacilos Gram negativos, debido a su capacidad para hidrolizar carbapenémicos y otros β -lactámicos, lo que produce una resistencia extendida (Halat & Moubareck, 2022). De acuerdo con la clasificación de Ambler, estas enzimas se dividen en: clase A (serin- β -lactamasas) que incluye a KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) codificada por el gen *bla_{KPC}*; clase B o metalo- β -lactamasas, donde se encuentran las enzimas IMP (Imipenemase), VIM (Verona Integron-encoded Metallo- β -lactamase) y NDM (Metallo- β -lactamasa de Nueva Delhi), codificadas por los genes *bla_{VIM}*, *bla_{IMP}* y *bla_{NDM}*. Finalmente, la clase D (Oxacilinasas) codificadas por el gen *bla_{OXA}* (Lirola et al., 2022). Estas enzimas muestran un patrón epidemiológico diferente en cada región del mundo y un perfil de hidrólisis propio de cada clase que restringe las opciones terapéuticas disponibles, dejando escasas alternativas para el tratamiento oportuno de los pacientes.

La importancia de identificar estas enzimas radica en que su diseminación se enmarca en la crisis mundial de la resistencia antimicrobiana (RAM), considerada una de las diez principales amenazas para la salud pública debido al uso indiscriminado y excesivo de antibióticos en la automedicación y la prescripción clínica inapropiada, lo cual ha contribuido al desarrollo de microorganismos multirresistentes, como *Pseudomonas aeruginosa* un bacilo Gram negativo no fermentador de alta relevancia clínica (World Health Organization, 2024). Dicho patógeno combina mecanismos de resistencia intrínseca con una alta capacidad para adquirir nuevos genes de resistencia mediante transferencia horizontal (conjugación, transducción y transformación) (Verdial et al., 2023). Esta capacidad adaptativa le otorga una ventaja evolutiva dentro del entorno hospitalario que supera el ritmo de desarrollo de nuevos antibióticos; al invalidar terapias

convencionales y obligar al uso de fármacos más tóxicos, se vuelve indispensable implementar una caracterización molecular activa para contener su propagación silenciosa.

Ante este escenario, los centros hospitalarios emplean ampliamente métodos de identificación fenotípica para la detección de estos mecanismos de resistencia debido a su accesibilidad y bajo costo. Al respecto, se ha reportado que pruebas de sinergia con discos combinados de ácido borónico (APB), etilendiaminotetraacético (EDTA) y la prueba del Carba NP, permiten una aproximación inicial sobre el tipo de carbapenamasa presente (Perozo et al., 2013). Sin embargo, estas metodologías presentan limitaciones intrínsecas en su sensibilidad y especificidad. Por lo tanto, se requiere el uso de pruebas genotípicas, como la PCR para la detección precisa de los genes de resistencia involucrados.

Por lo tanto, el aporte científico de esta investigación radica en establecer una línea base epidemiológica molecular de los genes de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa* dentro del Hospital Antonio Lorena. Los datos genotípicos obtenidos no solo permitirán entender la dinámica evolutiva local de este patógeno, sino que también sirven como herramienta para optimizar el uso de los antimicrobianos y reorientar la terapia en beneficio del paciente. Bajo este enfoque, la presente investigación tuvo como objetivo identificar fenotípicamente y por PCR las carbapenemasas tipo A, B y D en las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* proporcionadas por el Hospital Antonio Lorena de Cusco durante el periodo de abril a junio de 2025.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A nivel mundial, *Pseudomonas aeruginosa* resistente a los carbapenémicos representa una amenaza con una distribución crítica y heterogénea, consolidándose como el segundo o tercer patógeno más prevalente en diversas infecciones. En América del Norte como Europa, las tasas medianas de aislamiento oscilan entre el 15% y el 23%; sin embargo, Asia y África presentan escenarios aún más complejos donde la situación se agrava, llegando a ser el microorganismo dominante en países como India, Malasia y Nigeria, con frecuencias que superan el 30% de los casos. Por su parte, en América del Sur, la situación es igualmente alarmante, con una marcada tendencia hacia la multirresistencia que complica drásticamente la recuperación de los pacientes (Phan et al., 2023).

En el contexto nacional, *Pseudomonas aeruginosa* se ha consolidado como una de las principales amenazas asociadas a la atención de la salud (IAAS). Reportes recientes en el Perú confirman la presencia de genes de carbapenemasas en el 71,1% de los aislamientos de esta especie, con una distribución geográfica que alcanza 13 regiones, lideradas por Lima, Arequipa y Lambayeque. Desde el punto de vista molecular, el panorama peruano destaca por la presencia de metalo- β -lactamasas, principalmente el gen *bla*_{IMP} (63,3%) seguido de *bla*_{VIM} (15%). Resulta particularmente preocupante la circulación de cepas con combinaciones de genes, como la asociación *bla*_{IMP} /*bla*_{VIM} detectada en el 19% de los aislamientos positivos; esto refleja una evolución hacia perfiles de multirresistencia (Mayta et al., 2025).

En la región Cusco, el consumo de antimicrobianos en establecimientos de salud públicos está liderado por las penicilinas y otros betalactámicos (43%), seguidos por los macrólidos, lincosamidas y quinolonas (Salcedo, 2025). En respuesta a esta presión selectiva, el Hospital Antonio Lorena ha registrado un incremento progresivo en la afluencia de pacientes, pasando de 92,304 atenciones en el año 2023 a 124,244 en el 2024, lo que se refleja directamente en un mayor volumen de muestras biológicas procesadas (Hospital Antonio Lorena, 2024). En este

escenario, *Pseudomonas aeruginosa* representó el 4,92% del total de microorganismos aislados (61 aislamientos), concentrándose principalmente en la Unidad de Cuidados Intensivos, aunque mantiene una presencia significativa en otros servicios. En cuanto a su perfil de resistencia, se observan valores que alcanzan un 42,2% frente a Imipinem y el 40% ante Meropenem, extendiéndose además a cefalosporinas de amplio espectro como Cefepime (42,2%) y Ceftazidima (51,2%) (Hospital Antonio Lorena, 2023).

Este panorama restringe significativamente las alternativas terapéuticas disponibles, comprometiendo el éxito de los tratamientos y elevando el riesgo de morbilidad intrahospitalaria. Dado que hasta la fecha no se registran estudios moleculares en la ciudad del Cusco orientados a identificar los genes de resistencia a carbapenémicos en *Pseudomonas aeruginosa*, la presente investigación se consolida como un trabajo pionero para la región. Ante esta problemática, se plantea las siguientes interrogantes de investigación:

¿Qué tipo de carbapenemasas A, B y D son identificadas fenotípicamente y por PCR en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* proporcionadas por el Hospital de Antonio Lorena de Cusco, 2025?

Interrogantes específicas

1. ¿Qué cepas de *Pseudomonas aeruginosa* son identificadas como portadoras de carbapenemasas a partir del perfil de resistencia antimicrobiana?
2. ¿Que tipo de carbapenemasas son identificadas fenotípicamente en las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*?
3. ¿Qué genes de resistencia son asociados a carbapenemasas por PCR convencional en las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*?

JUSTIFICACIÓN

A nivel mundial, *Pseudomonas aeruginosa* resistente a los carbapenémicos es considerada una amenaza de prioridad alta para la salud pública, debido a su capacidad para desarrollar multirresistencia y generar infecciones graves en pacientes inmunocomprometidos (WHO, 2024). Este impacto clínico asciende a más de 559,000 muertes anuales en el mundo, de las cuales aproximadamente 300,000 son consecuencia directa de la resistencia antimicrobiana (Al-Daghistani et al., 2025).

Ante este escenario, el presente estudio se enfoca en detectar las carbapenemasas de las clases A, B y D de Ambler, específicamente a través de la identificación de los genes *bla_{KPC}*, *bla_{VIM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{NDM}* y *bla_{OXA-48}*, los cuales constituyen uno de los mecanismos de resistencia adquirida más importantes en *Pseudomonas aeruginosa*. Estos genes se propagan fácilmente entre bacterias, poseen una alta tasa de dispersión mundial y están frecuentemente asociados a brotes intrahospitalarios. Por lo tanto, centrar el análisis en dichos genes garantiza identificar con precisión los mecanismos de resistencia que afectan directamente a los pacientes de este nosocomio.

Para hacer frente a este panorama, los laboratorios clínicos emplean pruebas fenotípicas (sinergia con ácido borónico, EDTA y Carba NP) como tamizaje inicial para la detección de estos mecanismos de resistencia debido a su accesibilidad y viabilidad económica. Sin embargo, para la confirmación genotípica, esta investigación optó por la PCR convencional frente a alternativas como la PCR multiplex o en tiempo real; si bien estas últimas ofrecen ventajas en automatización, sus elevados costos y exigencias técnicas limitan su aplicación. En este sentido, la PCR convencional ofrece un equilibrio óptimo entre sensibilidad, especificidad y costo-efectividad.

Al identificar la dispersión de estos genes de resistencia, la presente investigación proporciona evidencia local que contribuye al sistema de vigilancia epidemiológica del Hospital Antonio Lorena. Los datos obtenidos permiten mitigar la brecha informativa actual y disminuir la dependencia de guías internacionales que no siempre reflejan la realidad de nuestra región., consolidado así una toma de decisiones informada y contextualizada en beneficio del control de infecciones intrahospitalarias

OBJETIVOS

Objetivo general

- Identificar fenotípicamente y por PCR carbapenemasas tipo A, B y D en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* proporcionadas por el Hospital Antonio Lorena de Cusco, 2025.

Objetivos específicos

1. Identificar las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* sugerentes a ser portadoras de carbapenemasas mediante el perfil de resistencia.
2. Identificar fenotípicamente la presencia de carbapenemasas tipo A, B y D en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Identificar por PCR convencional la presencia de genes de resistencia asociados a carbapenemasas tipo A, B y D en las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabla 1
Operacionalización de variables

DEFINICIÓN CONCEPTUAL	VARIABLES	INDICADORES	INSTRUMENTO DE MEDIDA
Identificación de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Reconocimiento de la especie bacteriana mediante la evaluación de sus características morfológicas y bioquímicas.	– Morfología bacteriana – Pruebas de diferenciación bioquímica	- Agar Cetrimide - Batería de pruebas bioquímicas: TSI, LIA, Citrato de Simons, MIO, Urea, oxidasa. - Termotolerancia y fluorescencia.	
Perfil de resistencia Es el patrón de resistencia que presenta una cepa bacteriana frente a una batería de antibióticos de diferentes familias.	- Diámetro del halo de inhibición (mm) - Categorías de interpretación: Sensible (S), Intermedio (I) y Resistente (R)	- Discos de sensibilidad antimicrobiana - Tabla de puntos de corte específicos para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Clinical and Laboratory Standards Institute M100-ed35, 2025)	
Identificación fenotípica de carbapenemasas Es renocer mediante ensayos la actividad enzimática de las carbapenemasas.	– Tipo A: Sinergia con ácido borónico (positivo /negativo) – Tipo B: Sinergia con EDTA (positivo /negativo) – Tipo D: Cambio de color del indicador de pH (positivo /negativo)	- Discos impregnados con ácido borónico - Discos impregnados con EDTA - Reactivos para prueba Carba NP	
Identificación genotípica de carbapenemasas Detección de genes de resistencia asociados a carbapenemasas de tipo A, B y D mediante PCR convencional y electroforesis en gel de agarosa.	– Tipo A: Detección del amplicón del gen <i>bla</i>_{KPC} (presencia/ausencia)	- Amplificación del gen <i>bla</i>_{KPC}	
	– Tipo B: Detección de los amplicones para los genes <i>bla</i>_{IMP} <i>bla</i>_{VIM}, <i>bla</i>_{NDM} (presencia/ausencia)	- Amplificación de los genes <i>bla</i>_{IMP} <i>bla</i>_{VIM}, <i>bla</i>_{NDM}.	
	– Tipo D: Detección del amplicón del gen <i>bla</i>_{OXA-48} (presencia/ausencia)	- Amplificación del gen <i>bla</i>_{OXA-48}	

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

1.1.1. Antecedentes internacionales

Kannan et al. (2025), en India, realizaron un análisis sobre la emergencia crítica de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente y extremadamente resistente. Los resultados evidenciaron que las tasas de resistencia en aislamientos clínicos superan el 70% para antibióticos clave, alcanzando niveles alarmantes de resistencia a carbapenémicos superiores al 60% en las unidades de cuidados intensivos. El estudio identificó que dicha resistencia se encuentra mediada por la presencia de metalo- β -lactamasas, específicamente los genes *bla_{NDM}* y *bla_{VIM}*; además, se observó la sobreexpresión de bombas de eflujo en más del 50% de los aislados y la pérdida de la porina OprD en cepas resistentes a carbapenémicos. Asimismo, reportaron que el 80% de las infecciones asociadas a dispositivos médicos presentan formación de biopelículas. Los autores concluyeron que la venta de antibióticos sin prescripción médica y el uso de combinaciones irracionales de dosis fijas, han acelerado esta problemática, resaltando la urgencia de implementar nuevas estrategias terapéuticas

Gadaime et al. (2024), en Libia en las ciudades de Derna y Bengasi, llevaron a cabo un estudio cuyo objetivo fue evaluar la resistencia antimicrobiana y la prevalencia de genes asociados a carbapenemasas en muestras clínicas. Para ello, se analizaron 45 aislados de *Pseudomonas aeruginosa* obtenidos de cuatro hospitales. Se empleó el método de disco difusión para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana y para la identificación genotípica de los genes de resistencia, se utilizó la PCR convencional. Los resultados mostraron alta resistencia a múltiples antibióticos antipseudomonales destacando Ceftazidima (75,6%), Aztreonam

(71,1%), Piperacilina/Tazobactam (60%), Ciprofloxacino (55,6%), Amikacina (48,9%) e Imipenem (48,9%), y el gen de mayor prevalencia fue *bla*_{NDM} (26,7%).

Ibrahim et al. (2024), en Libia en el Hospital Universitario de Trípoli, llevaron a cabo un estudio transversal prospectivo en cinco unidades de cuidados intensivos, con el propósito de identificar la prevalencia de bacterias multirresistentes (MDR) en pacientes hospitalizados, personal sanitario y equipos médicos. Para ello, recolectaron 197 muestras mediante hisopados de distintas fuentes, incluyendo muestras clínicas de pacientes (orales, nasales, manos, esputo y sitios de inserción de catéteres y cánulas), hisopos nasales de los trabajadores y muestras ambientales de equipos como tubos endotraqueales, máscaras de oxígeno e incubadoras. El sistema automatizado MicroScan autoSCAN 4 se empleó tanto para la identificación bacteriana como para las pruebas de susceptibilidad. Los resultados obtenidos revelaron que el 57,4% de los aislamientos correspondieron a bacilos Gram negativos, siendo *Pseudomonas aeruginosa* la tercera especie más prevalente (5,3%). Asimismo, se evidenció una elevada resistencia antimicrobiana frente a antibióticos comúnmente utilizados, como ceftazidima (96,5%), Gentamicina (95%), Amikacina (92%), Imipenem (89,5%) y Piperacilina/Tazobactam (89%) lo que refleja una preocupante circulación de cepas altamente resistentes en las unidades críticas del hospital.

Remolina et al. (2021), en seis Hospitales de Colombia - Bogotá, realizaron un estudio con el objetivo de identificar los tipos y frecuencias de carbapenemasas en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos, analizaron un total de 80 cepas. La detección de los genes *bla*_{KPC}, *bla*_{VIM}, *bla*_{NDM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{GES} y *bla*_{OXA-48} se realizó mediante PCR convencional. Los hallazgos evidenciaron que el 65% (52/80) de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* presentaba al menos

un gen de alguna carbapenemasa, predominando el gen *bla*_{KPC} (75%), seguido del gen *bla*_{VIM} con 21% y solo el 4% presento coexpresión entre los genes *bla*_{NDM} y *bla*_{VIM}, estos hallazgos evidencian una alta circulación del gen *bla*_{KPC}.

Melgarejo et al. (2021), en Paraguay llevaron a cabo un estudio observacional, prospectivo y de corte transversal, con el objetivo de caracterizar molecularmente los genes de resistencia que codifican carbapenemasas en bacilos Gram negativos aislados en once hospitales del país. La muestra estuvo conformada por 456 aislamientos bacterianos remitidos al Laboratorio Central de Salud Pública, de los cuales 360 correspondieron a bacilos Gram negativos no fermentadores. Entre estos, se identificó 14 aislamientos de cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, los cuales fueron analizados mediante la técnica de PCR para detectar genes asociados a la resistencia antimicrobiana. Los resultados obtenidos revelaron que el 50% de las cepas portaban genes de resistencia de tipo metalo- β -lactamasa en el gen *bla*_{NDM}.

Tomás da Costa et al. (2021), en Chile en 12 Hospitales de 9 ciudades, desarrollaron un estudio sobre la resistencia antimicrobiana en 113 aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos. La producción de carbapenemasas se evaluó mediante la prueba fenotípica Carba NP y, posteriormente, se identificaron los genes asociados mediante PCR convencional. Los resultados mostraron que el 54% (61/113) de las cepas analizadas presentaban carbapenemasas, destacando la presencia de los genes *bla*_{KPC} (52,5%) y *bla*_{VIM} (47,5%). No se identificó la presencia simultánea de ambos genes en un mismo aislamiento. Asimismo, los aislamientos productores de carbapenemasas exhibieron una alta resistencia a múltiples antimicrobianos, especialmente a Ceftazidima (83,3%) y Meropenem (100%).

1.1.2. Antecedentes nacionales

Mayta et al. (2025), en 18 regiones del Perú, llevaron a cabo una investigación con el objetivo de detectar molecularmente genes codificantes de carbapenemasas presentes en microorganismos de alto riesgo dentro del entorno hospitalario, entre los cuales se incluyó a *Pseudomonas aeruginosa*. La identificación bacteriana se realizó mediante cultivo selectivo en agar MacConkey y pruebas bioquímicas convencionales, complementadas con una PCR múltiple para la detección genotípica. En dicho estudio, el 71,1% de los aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* fueron positivos para genes de carbapenemasas. El gen *bla_{IMP}* fue el más frecuente (63,3%), seguido de *bla_{VIM}* (15%), *bla_{NDM}* (1,7%) y *bla_{KPC}* (1,3%). No se detectó la presencia del gen *bla_{OXA}* en ninguna cepa. Asimismo, se reportó la co-expresión de los genes *bla_{IMP}/bla_{VIM}* en el 19% de las cepas evaluadas. Con respecto a la distribución geográfica, la mayor concentración de cepas positivas para el gen *bla_{KPC}* se registró en Lima, Arequipa y Lambayeque, mientras que los genes *bla_{IMP}* y *bla_{NDM}* fueron predominantes en Lima y el gen *bla_{VIM}* se identificó en Lima, La Libertad y Apurímac.

Salvador et al. (2025), en Lima llevaron a cabo un estudio cuyo objetivo principal fue investigar la relación genética (clonalidad) de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* productoras de metalo- β -lactamasas en pacientes hospitalizados, con el fin de determinar si existía diseminación clonal asociada a brotes intrahospitalarios. La investigación incluyó 24 cepas resistentes a carbapenémicos provenientes de distintas unidades hospitalarias, en las cuales se evaluó la susceptibilidad antimicrobiana y se identificaron los genes de resistencia asociados. En cuanto a la identificación molecular se detectaron los genes *bla_{IMP}* (95,8%) y el gen *bla_{VIM}* (4,2%). Además, todas las cepas colectadas mostraron

resistencia a Imipenen, Meropenem y Ceftazidima, Cefepime (95,8%), Gentamicina y Ciprofloxacino (87,5%), Amikacina (83,3%), Piperacilina/Tazobactam (33,3%) y Aztreonam (12,5%).

Bernaola & Lujan (2024), en 8 hospitales de Lima, durante un primer periodo 2008 – 2010 y 15 centros hospitalarios distribuidos a nivel nacional en un segundo periodo 2017-2019, con el objetivo de evaluar la resistencia antimicrobiana en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y determinar la prevalencia de producción de carbapenemasas. Para ello, aplicaron pruebas fenotípicas a aislamientos bacterianos resistentes o con susceptibilidad intermedia a carbapenémicos, procedentes de pacientes internados en los servicios de Medicina y en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) del Hospital Guillermo Almenara, Edgardo Rebagliati, Cayetano Heredia y Hospital de Belén en Trujillo. En el primer periodo, identificaron un 14,9% de cepas positivas para la producción de carbapenemasas, entre los cuales el 4,1% correspondió a metalo- β -lactamasas (MBL). En el segundo periodo, detectaron el 20% de aislamientos positivos para carbapenemasas, sin encontrar cepas productoras de MBL.

Salvador et al. (2021), en el Hospital Militar Central de Lima, reportaron la detección del gen *bla_{KPC}* en *Pseudomonas aeruginosa*, siendo este el primer reporte de dicho gen en el Perú. El laboratorio de microbiología identificó bacilos Gram negativos no fermentadores con un patrón de multirresistencia frente a cefalosporinas, quinolonas, aminoglucósidos, carbapenémicos, monobactams y combinaciones con inhibidores de betalactamasas. El antibiograma reveló resistencia frente a Imipenem, Meropenem, Ceftolozano/Tazobactam, Piperacilina/Tazobactam, Amikacina, Gentamicina, Ciprofloxacina y Cefepime. La detección fenotípica de carbapenemasas se realizó mediante pruebas de

sinergia con discos de EDTA combinados con Imipenem y Meropenem, obteniéndose un resultado negativo para metalo- β -lactamasas y positivo para carbapenemasas mediante la prueba de BlueCarba. Posteriormente, la prueba inmunocromatográfica confirmó la presencia de la carbapenemasa tipo KPC, resultado que fue corroborado por PCR convencional con la identificación del gen *bla*_{KPC}.

1.1.3. Antecedentes locales

Cruz & Macedo (2022), en Cusco en el Hospital Nacional Adolfo Guevara Velasco, llevaron a cabo un estudio, con el objetivo de identificar los factores reacionados a la resistencia antimicrobiana en pacientes con neumonía intrahospitalaria expuestos a tratamiento antibiótico. Se analizaron 231 aislamientos bacterianos, de los cuales el 18,6 % correspondía a cepas *Pseudomonas aeruginosa*. Esta especie mostró una elevada resistencia antimicrobiana: 100 % a Ampicilina/Sulbactam, 87,5 % a Imipenem, 82,14 % a Meropenem, 80,65 % a Piperacilina/Tazobactam, 67,74 % a Cefepime y 96,67 % a Tigeciclina. Asimismo, se observó una asociación estadísticamente significativa entre la resistencia antimicrobiana y factores como la administración previa a antibióticos, el tiempo de hospitalización y el uso de ventilación mecánica.

1.2. Descripción de *Pseudomonas aeruginosa*

1.2.1. Ubicación taxonómica de *Pseudomonas aeruginosa*

Dominio: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Pseudomonadales

Familia: Pseudomonadaceae

Género: *Pseudomonas*

Especie: *Pseudomonas aeruginosa*

Rudra et al., (2022) y Bergey & Holt (2000).

1.2.2. Contexto histórico y clínico de *Pseudomonas aeruginosa*

A finales del siglo XIX, el científico alemán Walter Migula realizó la descripción inicial del género *Pseudomonas*. Etimológicamente, el nombre proviene del griego y significa “falsa unidad”, haciendo referencia a su morfología poco convencional dentro de las clasificaciones bacterianas de la época (Migula, 1894). Schroeter introdujo el término *aeruginosa* al observar que la bacteria producía un pigmento soluble en agua con tonalidad verde-azulada, semejante al óxido de cobre, el cual más tarde se identificaría como piocianina. Aunque en un primer momento fue denominada *Bacterium aeruginosum*, posteriormente fue reconocida formalmente como *Pseudomonas aeruginosa*, una especie que destaca por su alta capacidad de adaptación, movilidad y relevancia clínica debido a su notable potencial patógeno (Schoeter 1872, como se citó en Rodríguez & Burgos, 2024).

Así mismo, *Pseudomonas aeruginosa* destaca por ser uno de los microorganismos más letales en el ámbito hospitalario, con tasas de mortalidad que oscilan entre el 30 % y 40 %, dentro de las 48 horas de instaurada la infección. Este desenlace fatal se asocia principalmente a infecciones de origen pulmonar, como la neumonía nosocomial, donde la administración tardía o inadecuada de antimicrobianos agrava significativamente el pronóstico clínico. La gravedad de estas infecciones se potencia en pacientes inmunocomprometidos, quienes presentan una menor capacidad de respuesta inmune (Rodríguez & Burgos, 2024).

1.2.3. Características biológicas de *Pseudomonas aeruginosa*

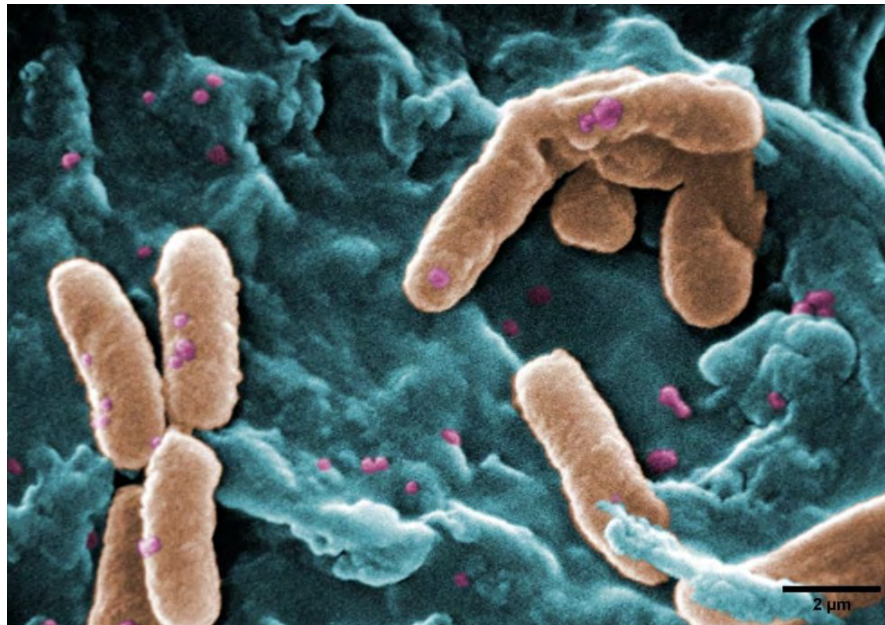
Pseudomonas aeruginosa es una bacteria Gram negativa con forma de bacilo, posee un flagelo polar que le proporciona movilidad. Además, cuenta con un pili que facilita la adherencia a superficies celulares y la motilidad por deslizamiento, mientras que su cápsula mucoide de alginato contribuye a la protección frente a la fagocitosis y aumenta la resistencia a antimicrobianos (Alharbi et al., 2025).

Se caracteriza también por ser asporógena, significa que no producen esporas como mecanismo de supervivencia; por lo tanto, depende de otros mecanismos de adaptación y resistencia para sobrevivir en condiciones adversas. En cultivo, desarrolla colonias con aspecto nacarado y un aroma característico semejante al de la uva o la tortilla. Su rango de crecimiento abarca desde los 25 °C hasta los 37°C, siendo capaz de prosperar incluso a 42 °C, una característica que la distingue de otras especies dentro del mismo género (Wu et al., 2015).

1.2.4. Morfología de *Pseudomonas aeruginosa*

En cuanto a su forma y tamaño, corresponde a un bacilo recto o ligeramente curvado como se observa en la Figura 1, con dimensiones que oscilan entre 1,5 y 4 μm de longitud y 0,5 a 0,8 μm de ancho (Haney, 2022)

Figura 1 *Pseudomonas aeruginosa*



Nota. Micrografía electrónica de barrido de *Pseudomonas aeruginosa* (Haney, 2022)

1.2.5. Características moleculares de *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa posee uno de los genomas mas extensos entre las bacterias Gram negativas aproximadamente 6,3Mpb, lo que le otorga una excepcional capacidad de adaptación metabólica y regulatoria. Su patogénesis esta orquestada por complejos sistemas de *Quorum Sensing* una red jerárquica de comunicación celular; este mecanismo induce la producción coordinada de toxinas, elastasas, rhamnolípidos y pigmentos como la piocianina. A nivel de resistencia, su perfil destaca por la presencia de bombas de eflujo, la pérdida selectiva de porinas de la membrana externa y la producción de diversas carbapenemasas. La interacción de estos mecanismos permite al patógeno no solo evadir la respuesta inmune, sino también neutralizar una

amplia gama de agentes antimicrobianos bajo condiciones de presión selectiva (Alharbi et al., 2025).

1.2.6. Características ecológicas de *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa es un microorganismo ubicuo y de gran plasticidad ecológica, capaz de colonizar entornos naturales y hospitalarios gracias a su capacidad de sobrevivir bajo condiciones de estrés, como hipoxia y escasez de nutrientes. Clínicamente, actúa como un patógeno oportunista de alta relevancia, estableciendo infecciones severas y persistentes, en pacientes con neoplasias, quemaduras extensas o fibrosis quística (Alharbi et al., 2025).

1.2.7. Patogenicidad de *Pseudomonas aeruginosa*

La patogenicidad de *Pseudomonas aeruginosa* no depende de un único factor, sino de una estrategia coordinada donde la virulencia y la resistencia se entrelazan. Esta bacteria emplea una jerarquía regulatoria donde los sistemas de Quorum Sensing sincronizan la expresión de toxinas para dañar tejidos y evadir la respuesta inmunitaria del hospedador. Todo este arsenal permite que, una vez instalada en pacientes inmunocomprometidos, el patógeno transite de una fase de colonización aguda a una crónica consolidando así su persistencia frente a los tratamientos antimicrobianos (Elfadadny et al., 2024).

1.2.8. Factores de virulencia de *Pseudomonas aeruginosa*

Diversos estudios han evidenciado que *Pseudomonas aeruginosa* posee una notable capacidad para generar daño en tejidos infectados, debido a la producción coordinada de toxinas, enzimas y pigmentos que alteran el entorno celular. Esta agresividad estructural, contribuye a la generación de enfermedades crónicas y también dificulta la acción de los antimicrobianos convencionales, especialmente en entornos

hospitalarios donde se seleccionan cepas altamente resistentes (Qin et al., 2022). Los principales mecanismos de virulencia identificados son los siguientes:

1.2.8.1. Lipopolisacáridos (LPS)

El lipopolisacárido (LPS) se constituye como un factor de virulencia crítico y un pilar estructural de la membrana externa, desempeñando un rol dual en la patogénesis y la supervivencia bacteriana. Molecularmente, se estructura en tres dominios: el lípido A, el núcleo y el O-polisacárido (Alharbi et al., 2025; Verdial et al., 2023).

1.2.8.2. Toxinas y enzimas extracelulares

Pseudomonas aeruginosa produce un repertorio diverso de toxinas y enzimas que lesionan los tejidos del hospedador. Entre ellas, destacan:

- **Exotoxina A (ETA):** inhibe la síntesis proteica en células del hospedador mediante un mecanismo de ADP-ribosilación.
- **Piocianina:** pigmento tóxico que genera especies reactivas de oxígeno y contribuye al daño tisular.
- **Elastasas LasA y LasB, proteasa alcalina, fosfolipasas y lipasas:** degradan componentes de la matriz extracelular, interfieren con defensas inmunes y facilitan la diseminación bacteriana.
- **Rhamnolípidos:** sustancias tensioactivas que alteran la barrera epitelial pulmonar, destruyen uniones celulares y favorecen la invasión bacteriana (Qin et al., 2022).

1.2.8.3. Sistemas de secreción

Emplea varios sistemas de secreción para transportar factores de virulencia al entorno extracelular o directamente a las células del hospedador. En particular:

- **T3SS (Type III Secretion System):** funciona como una jeringa molecular que inyecta toxinas intracelularmente.
- **T6SS (Type VI Secretion System):** participa tanto en la competencia interespecies y desempeñando un papel importante en la formación de biopelículas y en la colonización (Qin et al., 2022).

1.2.8.4. Biopelículas y exopolisacáridos

La capacidad de formar biopelículas otorga a *Pseudomonas aeruginosa* una notable resistencia frente a tratamientos antimicrobianos y mecanismos de defensa del hospedador. Los principales exopolisacáridos implicados en esta estructura son el alginato, Psl y Pel, los cuales protegen a las bacterias embebidas en la matriz y favorecen la persistencia en entornos hospitalarios (Qin et al., 2022).

1.2.8.5. Sideróforos

Pseudomonas aeruginosa produce sideróforos como la piochelina y la pioverdina, que le permiten captar hierro en ambientes donde este elemento es limitado. El hierro es esencial para la supervivencia bacteriana (Qin et al., 2022).

1.2.8.6. Vesículas de membrana externa (OMVs)

Las OMVs son estructuras esféricas que contienen enzimas, toxinas, material genético. Estas vesículas actúan como vehículos de entrega hacia las células huésped sin necesidad de contacto directo, facilitando la evasión inmune, la resistencia a antibióticos y la propagación de material genético (Qin et al., 2022).

1.2.8.7. Enzimas antioxidantes

Para resistir el ataque del sistema inmune, la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* secreta enzimas como catalasas, superóxido dismutasas y reductasas de

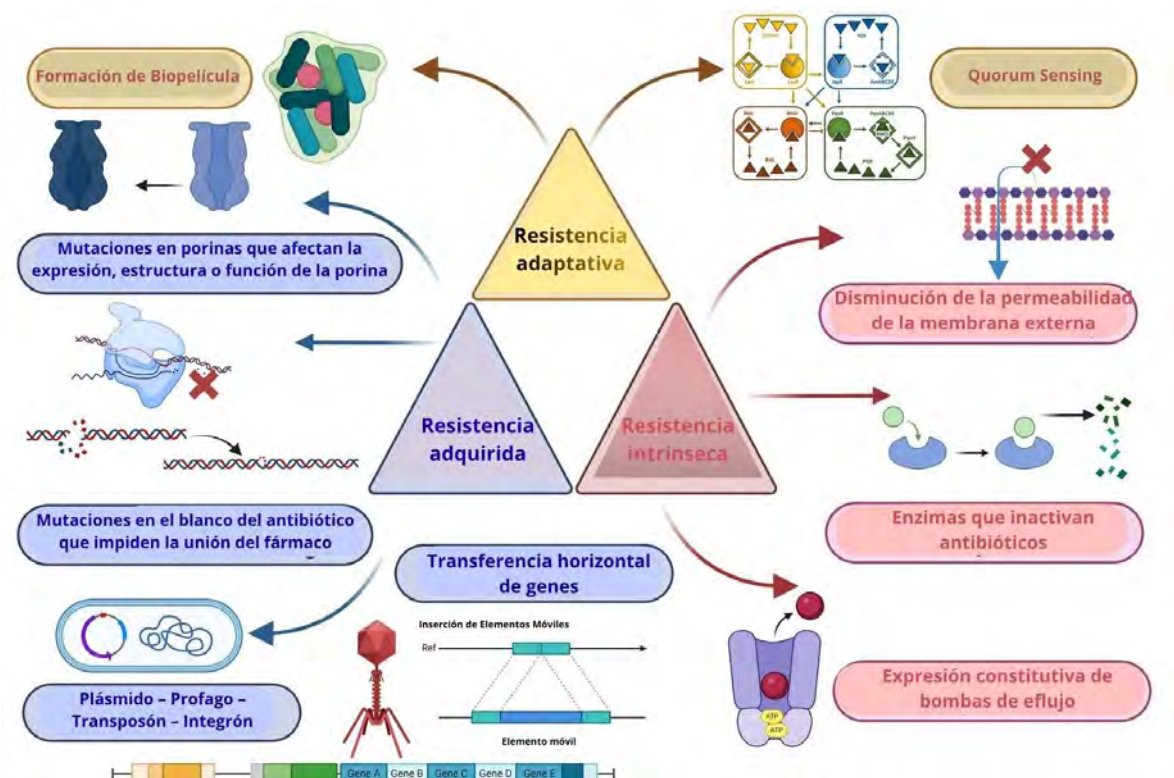
hidroperóxidos, que neutralizan radicales libres generados por neutrófilos y macrófagos durante la fagocitosis (Qin et al., 2022).

1.2.9. Mecanismos de resistencia antibiótica de *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa destaca por su capacidad de multirresistencia. Este fenómeno se sustenta en mecanismos de tipo intrínseco, adquirido y adaptativo (Figura 2), los cuales actúan de forma conjunta para neutralizar diversas clases de antibiotico (Elfadadny et al., 2024).

Figura 2

Tipos de resistencia antimicrobiana de Pseudomonas aeruginosa



Nota. Tipos de resistencia: intrínseca, adquirida y adaptativa, mediante biopelículas, quorum sensing, mutaciones y bombas de expulsión Elfadadny et al., (2024).

1.2.9.1. Resistencia intrínseca

La resistencia intrínseca es la capacidad innata de *Pseudomonas aeruginosa* para tolerar diversos antimicrobianos sin necesidad de haber adquirido genes externos.

Esta se basa en factores estructurales y funcionales, como:

- Baja permeabilidad de la membrana externa, que limita el ingreso de ciertos antibióticos hidrofílicos.
- Bombas de eflujo como MexAB-OprM, encargadas de expulsar activamente los fármacos fuera de la célula.
- Presencia de la β -lactamasa de clase C (AmpC), una enzima capaz de hidrolizar antibióticos β -lactámicos y desactivarlos antes de que puedan ejercer su acción.

Estos mecanismos confieren resistencia natural a varias clases de antimicrobianos, dificultando las opciones terapéuticas iniciales (Jáuregui et al., 2021).

1.2.9.2. Resistencia adquirida

La resistencia adquirida implica modificaciones genéticas que se generan por mutaciones o transferencia horizontal de genes entre bacterias. Entre los mecanismos mas importantes tenemos:

- Producción de β -lactamasas de espectro extendido (ESBL) y carbapenemasas.
- Mutaciones en porinas como la OprD, que reducen el ingreso de los carbapenémicos.
- Alteración de dianas enzimáticas, como las topoisomerasas, afectando la eficacia de fluoroquinolonas.
- Sobreexpresión de bombas de eflujo inducidas por presión antibiótica que incrementan la resistencia a aminoglucósidos y otros antibióticos.

Esta resistencia puede surgir mediante mutaciones espontáneas que alteran los blancos del antibiótico, incrementan la expulsión del fármaco o disminuyen su entrada a la célula, así como la adquisición de nuevos genes de resistencia mediante la transferencia horizontal como conjugación, transducción o transformación.

Estos procesos favorecen la aparición de cepas multirresistentes, dificultando el tratamiento efectivo de las infecciones bacterianas (Elfadadny et al., 2024).

1.2.9.3 Resistencia adaptativa

La resistencia adaptativa se refiere a respuestas transitorias que surgen frente a condiciones ambientales específicas, como la exposición al sistema inmune o a antibióticos. Incluye fenómenos como:

- Desarrollo de biopelículas, que sirve de barrera física contra los agentes antimicrobianos, dificultando su penetración.
- Formación de células persistentes (persister cells), subpoblaciones metabólicamente inactivas que sobreviven a tratamientos sin presentar mutaciones de resistencia.

Este tipo de resistencia es reversible y tiene un papel importante en las infecciones crónicas, especialmente en pacientes con fibrosis quística o infecciones asociadas a dispositivos médicos (Elfadadny et al., 2024).

1.3. Carbapenemasas

Son enzimas pertenecientes a la familia de las β -lactamasas, capaces de hidrolizar los carbapenémicos, antibióticos de amplio espectro que se reservan para tratar infecciones graves. Estas enzimas también inactivan otros β -lactámicos, lo que confiere una resistencia significativa a múltiples antibióticos (Halat & Moubareck, 2022).

1.3.1. Clasificación según Ambler

Estas enzimas se agrupan en tres clases principales de acuerdo a la clasificación molecular de Ambler: clase A, B y D, cada una con características bioquímicas y genéticas particulares (Halat & Moubareck, 2022).

1.3.1.1 Carbapenemasas de clase A

Las enzimas de clase A o serin β -lactamasas pueden hidrolizar penicilinas, monobactámicos, cefalosporinas de amplio espectro y carbapenémicos. Su mecanismo de acción se basa en un residuo de serina en el sitio activo. Estas enzimas pueden encontrarse codificadas en plásmidos o estar localizadas en el cromosoma bacteriano, esto facilita su diseminación. Aunque son susceptibles a ciertos inhibidores, la actividad de estas enzimas ha sido vinculada a clones de alto riesgo epidemiológico (Halat & Moubareck, 2022).

Dentro de las carbapenemasas de clase A, la KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa) codificada por el gen *bla*_{KPC}, es de gran importancia clínica debido a su capacidad para inactivar diversos antibióticos β -lactámicos. Este gen se localiza en elementos móviles como plásmidos e integrones, lo que favorece su transmisión entre diversas bacterias, incluyendo *Pseudomonas aeruginosa* (Halat & Moubareck, 2022).

El gen *bla*_{KPC} fue detectado por primera vez en 2007, en un aislamiento clínico de Medellín, Colombia. Desde entonces, su presencia se ha reportado principalmente en América y Asia, convirtiéndose en una amenaza creciente para la salud pública. Las cepas portadoras del gen *bla*_{KPC} suelen ser multirresistentes, debido a que combinan esta enzima con otros mecanismos de resistencia como las bombas de eflujo, pérdida de porinas o la coexistencia con otras β -lactamasas (Giovagnorio et al., 2023).

1.3.1.2 Carbapenemasas de clase B

Las carbapenemasas de clase B o Metallo- β -lactamasas, necesitan de la presencia de iones metálicos como el zinc, para ejercer su actividad catalítica. Son capaces de hidrolizar todos los antibióticos β -lactámicos, excepto el Aztreonam. A diferencia de otras β -lactamasas, no son inhibidas por los inhibidores tradicionales, pero sí pueden

ser neutralizadas por agentes quelantes. Esta clase de carbapenemasas representa una de las mayores amenazas por su eficacia y diseminación global (Halat & Moubareck, 2022). A continuación, se describen las Metallo- β -lactamasas más relevantes:

a. Carbapenemasa tipo IMP (Imipenemase)

Las enzimas IMP constituyen uno de los primeros subtipos de Metallo- β -lactamasas (MBLs) descritos en bacterias Gram negativas, y han sido identificadas con frecuencia en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. Estas enzimas pueden hidrolizar diversos antibióticos β -lactámicos, incluyendo carbapenémicos, así como cefalosporinas de tercera generación y penicilinas. Aunque no afectan directamente al Aztreonam, su coexistencia con otros mecanismos de resistencia puede limitar la efectividad terapéutica de estos fármacos (Giovagnorio et al., 2023).

Las carbapenemasas tipo IMP actúan mediante el uso de iones metálicos como el Zinc en su sitio activo, los cuales facilitan la ruptura del anillo β -lactámico del antibiótico, anulando así su efecto bactericida. Esta característica les confiere una notable eficiencia en la degradación de β -lactámicos. La diversidad de variantes y su diseminación global resalta su relevancia clínica y epidemiológica en contextos hospitalarios (Giovagnorio et al., 2023).

La enzima IMP esta codificada por el gen *bla*_{IMP}, este gen el cual constituye el segundo tipo mas prevalente dentro de este grupo de enzimas. No solo fue descrito en *Pseudomonas aeruginosa*, sino también fue reportado en miembros del grupo de los Enterobacterales y en *Acinetobacter baumannii*. Se han identificado al menos 79 variantes del gen. Entre ellas, el subtipo IMP-6 se caracteriza por presenta una mayor actividad hidrolítica para Meropenem en comparación con Imipenem a diferencia de otros subtipos de IMP (Jeong & Hoon , 2021).

Asimismo, este gen se encuentra con mayor frecuencia integrado en integrones de la clase 1, los que suelen portar adicionalmente otros genes de resistencia a antibióticos diferentes a los β -lactámicos favoreciendo así la resistencia bacteriana (Halat & Moubareck, 2022).

Las variantes IMP-1, IMP-4, IMP-13 son subtipos clínicamente relevantes de la metalo- β -lactamasas tipo IMP, asociadas a *Pseudomonas aeruginosa*. La IMP-1 fue inicialmente detectada en Japón, la IMP-4 en Australia y China, y la IMP-13 ha sido identificada en brotes hospitalarios en Europa y América Latina. (Timothy et al., 2005).

b. Carbapenemasa tipo VIM (Verona Integron-encoded Metallo- β -lactamase)

Descrita por primera vez en 1999 en el Hospital Universitario de Verona, al norte de Italia, a partir de una muestra clínica de un paciente con infección nosocomial. El descubrimiento fue realizado por Lauretti et al., (1999), citado por López y Ruiz citado (2024), quienes caracterizaron el gen *bla_{VIM-1}*, localizado en un integrón clase 1, lo que explicó su capacidad de diseminación horizontal entre distintas especies bacterianas.

La enzima VIM se considera una de las metalo- β -lactamasas, más prevalentes a escala mundial. Esta enzima confiere resistencia a carbapenémicos, penicilinas y cefalosporinas, dejando como única opción terapéutica el uso del Aztreonam, cuya eficacia real puede verse reducida si coexisten otras enzimas inactivantes. Los antibiogramas suelen mostrar un perfil de resistencia a múltiples antibióticos β -lactámicos. La alta prevalencia de la enzima VIM en infecciones hospitalarias graves la convierte en un marcador relevante para la vigilancia epidemiológica y el control de brotes (Giovagnorio et al., 2023).

La enzima VIM se encuentra codificada por el gen *bla_{VIM}*, el cual puede localizarse tanto a nivel cromosómico como en plásmidos. Independientemente de su ubicación, las variantes de este gen se movilizan como casetes génicos insertados en un integron de clase 1. Este gen presenta una distribución mundial, con reportes en Europa y América, así como en países de Asia (Corea, India e Irán) y en Australia. Cabe mencionar que las variantes *bla_{VIM-1}* y *bla_{VIM-2}* poseen una mayor capacidad de diseminación en comparación con los genes *bla_{IMP}*, habiéndose establecido no solo en bacterias no fermentadoras, sino también en miembros del grupo Enterobacterales (Walsh, 2010).

c. Carbapenemasa tipo NDM (New Delhi Metallo-β-lactamase)

Las enzimas tipo NDM fueron identificadas inicialmente en el año 2008, en un paciente sueco que presentó la infección tras retornar de un viaje a la India, desarrolló una infección urinaria generada por *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenémicos. A partir de ese momento, se han documentado casos de *bla_{NDM}* en diversas regiones del mundo, evidenciando una propagación acelerada a nivel internacional (Resurrección et al., 2017).

Se caracteriza por su capacidad para hidrolizar diferentes clases de antibióticos, confiriendo resistencia a las penicilinas, cefalosporinas de amplio espectro. Aunque no tiene acción directa sobre el Aztreonam, la eficacia de este antibiótico puede verse comprometida cuando coexisten otros mecanismos de resistencia en la misma cepa. Las Carbapenemasas tipo NDM dependen del Zinc (Zn^{2+}), en su sitio activo para catalizar la ruptura del anillo β-lactámico del antibiótico, anulando así su efecto bactericida (Giovagnorio et al., 2023).

El gen *bla*_{NDM}, es responsable de la expresión de esta carbapenemasa y puede localizarse tanto a nivel cromosómico como en plásmidos móviles. Estos últimos tienen la capacidad de albergar otros genes determinantes de resistencia, lo que contribuye a la multirresistencia entre bacterias Gram negativas (Sharma et al., 2023). Aunque su hospedero principal es *Klebsiella pneumoniae*, su detección se ha extendido a otros miembros del orden Enterobacterales y a bacilos no fermentadores. La expansión global de este gen, con reportes que abarcan desde Norteamérica y Europa hasta África y el Sudeste Asiático, es el resultado de la globalización, el incremento del comercio internacional y la notable plasticidad genética de los plásmidos que lo transportan (Walsh, 2010).

En cuanto a su diversidad, se han descrito 24 variantes del gen *bla*_{NDM}, las cuales difieren entre si por la secuencia de aminoácidos individuales (Wu et al., 2019).

1.3.1.3. Carbapenemasas de clase D

Las carbapenemasas de clase D, también conocidas como oxacilinasas, se caracterizan por su capacidad para hidrolizar ciertos antibióticos como la oxacilina y otros carbapenémicos. Estas enzimas no se ven afectadas por los inhibidores convencionales de la clase A (como el ácido clavulánico) o la clase B (EDTA), lo que limita el tratamiento. Aunque la prevalencia en *Pseudomonas aeruginosa* es menor en comparación con las enzimas de clase A y B, su detección es importante debido a su localización en plásmidos, lo que facilita su dispersión y contribuye a la multirresistencia bacteriana (Halat & Moubareck, 2022).

La enzima OXA – 48 pertenece a la clase D y se caracteriza por hidrolizar de forma débil a los carbapenémicos, especialmente Imipenem a diferencia de las carbapenemasas de clase A o B, muestra alta actividad frente a penicilinas, pero una

baja afinidad por las cefalosporinas de amplio espectro; presenta además, baja afinidad por los inhibidores de β -lactamasas convencionales como el tazobactam y el ácido clavulánico e incluso frente a algunos inhibidores modernos, lo que complica su neutralización farmacológica. Sin embargo, su expresión puede no reflejarse en niveles altos de resistencia en los antibiogramas convencionales (Giovagnorio et al., 2023).

Esta enzima se encuentra codificada por el gen *bla*_{OXA-48}, el cual fue aislado inicialmente en 2004 en cepas de *Klebsiella pneumoniae* en Turquía. Actualmente, el norte de África y Oriente Medio se consideran zonas endémicas. Los genes responsables de codificar estas carbapenemasas se localizan en elementos genéticos móviles, lo que favorece su transferencia horizontal mediante plásmidos. Se ha determinado que el gen *bla*_{OXA-48} forma parte del transposón compuesto denominado Tn1999 (Pitout et al., 2019).

1.4. Identificación fenotípica

La identificación fenotípica de *Pseudomonas aeruginosa* inicia con la confirmación de la especie mediante criterios microbiológicos estandarizados, tales como su metabolismo no fermentador, prueba de oxidasa positiva, capacidad termófila (42°C), crecimiento en Agar Cetrimide y la síntesis de pigmentos característicos (Lopez et al. 2004). Una vez confirmada la identidad, se procede a la caracterización funcional de sus mecanismos de resistencia, proceso fundamental para distinguir entre poblaciones bacterianas silvestres y aquellas con resistencia adquirida (Navarro et al., 2011).

Este análisis se fundamenta en una diversidad de métodos diagnósticos que abarcan desde técnicas convencionales de difusión en disco hasta enfoques rápidos y avanzados, tales como el test Carba NP y sistemas automatizados. Estos procedimientos resultan indispensables en la práctica clínica para confirmar la actividad funcional de las

carbapenemasas , proporcionando información esencial para el manejo integral de las infecciones (Vamsi et al., 2022).

1.4.1. Detección de carbapenemasas de tipo A por el test de ácido borónico.

El ácido borónico actúa como un inhibidor específico de las carbapenemasas de clase A. En la prueba se emplean discos impregnados con 300 µg ácido borónico. El procedimiento consiste en colocar el disco de ácido borónico (APB) en el centro de la placa, mientras que los discos de Imipenem y Meropenem se sitúan a 24mm de distancia a ambos lados. La prueba se interpreta como positiva cuando se evidencia ensanchamiento del halo de inhibición o efecto sinérgico entre el disco de ácido borónico y los discos de carbapenémicos (Miranda et al., 2018).

1.4.2. Detección de Metallo-β-lactamasas por el método de doble disco con EDTA.

La prueba de doble disco con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), conocida como Double Disc Synergy Test (DDST), se reconoce como un método fenotípico ampliamente utilizado para la identificación de Metallo-β-lactamasas (MBL) en *Pseudomonas aeruginosa* y otros bacilos Gram negativos. Su fundamento radica en que estas enzimas dependen de iones zinc (Zn^{2+}) para su actividad, y al ser quelados por el EDTA se inhibe su acción, lo que permite recuperar la eficacia del antibiótico. En la práctica, se coloca un disco con Imipenem a una distancia fija de un disco impregnado con EDTA en Agar Mueller Hinton, y la aparición de un aumento en el halo de inhibición en el área de interacción indica la producción de Metallo-β-lactamasas, constituyendo así una técnica económica, sencilla y aceptada para la vigilancia en laboratorios clínicos (Varshini et al., 2023).

1.4.3. Detección de Carbapenemasas tipo D por la prueba de Carba NP.

Respecto a la prueba Carba NP, esta se define como un método fenotípico, bioquímico y colorimétrico de referencia para la detección temprana de carbapenemasas en bacilos Gram negativos, tales como *Pseudomonas aeruginosa*. Su mecanismo se fundamenta en la hidrólisis del imipenem, proceso que genera la acidificación del medio y un cambio cromático en el indicador de pH (rojo de fenol), el cual vira de rojo a amarillo o naranja ante la actividad enzimática. Esta prueba destaca por su versatilidad al detectar no solo carbapenemasas tipo D, sino también las de tipo A y B, ofreciendo resultados en un tiempo máximo de dos horas según la cinética enzimática de cada variante. En comparación con métodos convencionales que requieren entre 18 a 24 horas de incubación, la prueba de Carba NP optimiza la vigilancia epidemiológica y permite la instauración de un tratamiento oportuno (Rudresh et al., 2017).

1.5. PCR convencional

La PCR constituye una herramienta molecular rápida, sensible y específica diseñada para amplificar fragmentos determinados de ADN a partir de genes blanco altamente conservados. El procedimiento comprende un proceso de ciclos térmicos que incluyen la desnaturalización del ADN, el alineamiento de cebadores específicos y la extensión mediada por una ADN polimerasa, lo que posibilita la amplificación del gen objetivo (Tang et al., 2017).

1.5.1. Estructura genómica de *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa exhibe una notable capacidad de adaptación ante condiciones ambientales adversas, respaldada por un genoma de aproximadamente 6,3 millones de pares de base. Su material genético se organiza en dos partes: el genoma central (core genome) y el genoma accesorio. El primero está altamente conservado, lo que asegura estabilidad genética y permite identificar genes diana para técnicas de diagnóstico

molecular como la PCR. Por su parte el genoma accesorio se compone principalmente por elementos extracromosómicos variables y no conservados, como los plásmidos. Estos elementos móviles, que incluyen islas genómicas, son los principales responsables de la versatilidad del patógeno, ya que actúan como vehículos de genes implicados en la virulencia y la resistencia a los antibióticos (Verdial et al., 2023).

CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

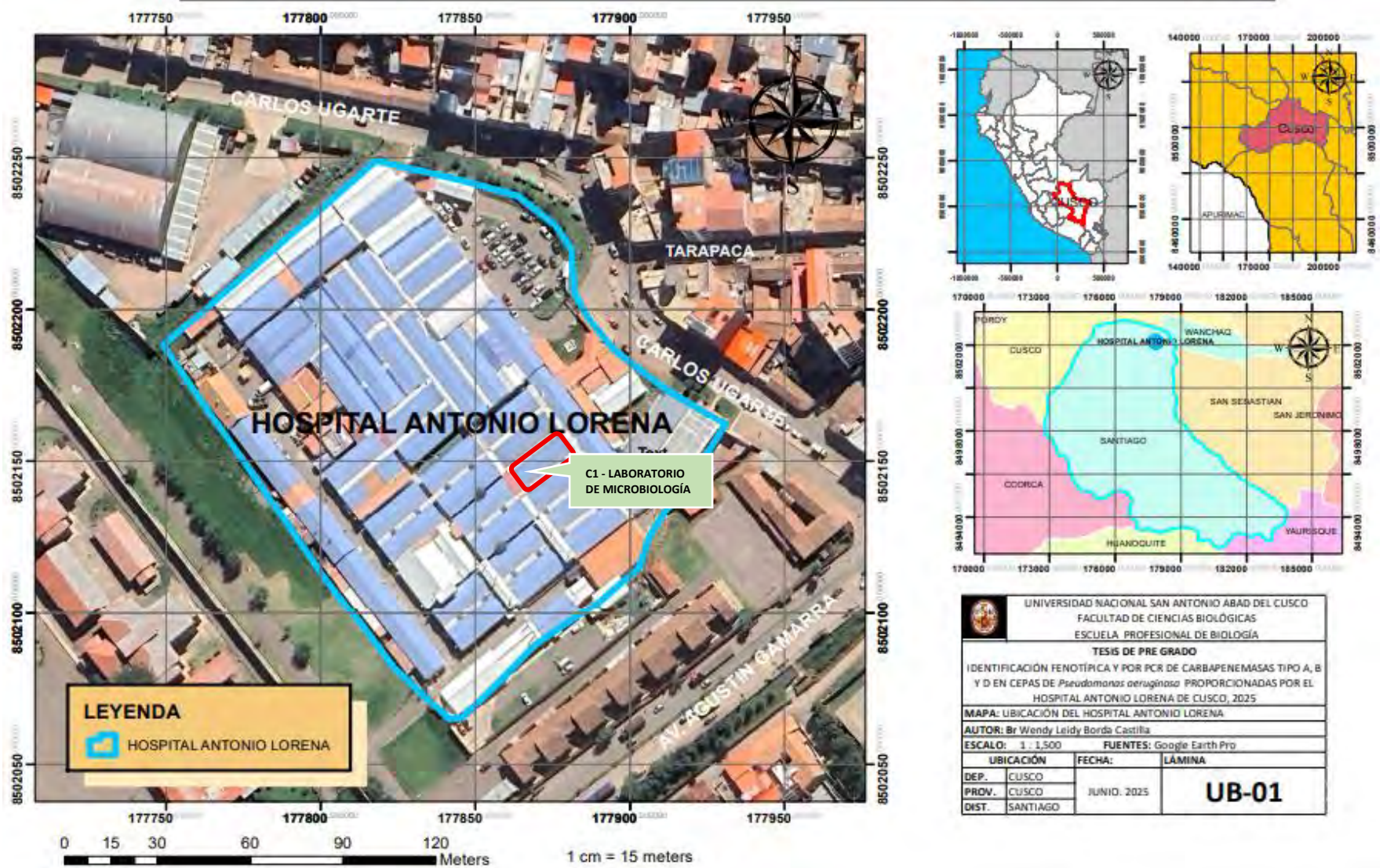
2.1. Área de procedencia de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* – Hospital

Antonio Lorena

El Hospital Antonio Lorena de Cusco, categorizado como establecimiento de salud de Nivel III – 1, se localiza en la Av. Carlos Ugarte S/N de la Urbanización Primavera-Huancaro del Distrito de Santiago departamento del Cusco, en las coordenadas geográficas 13°32'09.1'' S 71°58'44.6''W (Figura 3).

El Laboratorio de Microbiología se encuentra ubicado en el primer piso del Bloque C1, dentro del módulo de ayuda al diagnóstico.

Figura 3
Mapa de Ubicación del Hospital Antonio Lorena



Nota. Google earth Pro

2.2. Área de procesamiento de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* – Laboratorio

Institucional de Investigación en Microbiología e Inmunología

Ubicado en el 2° piso de la Facultad de Ciencias Biológicas del bloque 16 de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, ubicado en la Av. La Cultura N° 773.

2.2.1. Material biológico

Cepas bacterianas

- 37 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* proporcionadas por el Laboratorio del Hospital Antonio Lorena correspondiente a la totalidad de aislamientos disponibles en el periodo de abril a junio 2025.

Cepas patrón

Proporcionadas por el Laboratorio Institucional de Investigación en Microbiología e Inmunología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

- Cepa ATCC 27853 *Pseudomonas aeruginosa* (control negativo)
- Cepa ATCC BAA 2146 *Klebsiella pneumoniae* (Control positivo *bla_{NDM}*)
- Cepa NCTC 13476 *Escherichia coli* (Control positivo *bla_{IMP}*)
- Cepa NCTC 13440 *Klebsiella pneumoniae* (Control positivo *bla_{VIM}*)
- Cepa ATCC BAA 2814 *Klebsiella pneumoniae* (Control positivo *bla_{KPC}*)
- Cepa ATCC BAA 2523 de *Escherichia coli* (Control positivo *bla_{OXA-48}*)

2.2.2. Material de laboratorio

2.2.2.1 Equipos

- Termociclador - Proflex modelo 15147105
- Horno pasteur (Binder ED 23)
- Autoclave (Phoenix AV-75)

- Destilador (GFL 2004)
- Cabina de bioseguridad (Telstar Bio II)
- Refrigeradora (Coldex)
- Transiluminador de luz UV
- Fuente de potencia (Bio Rad)
- Cámara electroforética (Consort)
- Balanza analítica (Ohaus)
- Vortex (Biosam)
- Micropipetas de 5 µL-10 µL, 10 µL-100µL, 100µL-1000 µL (Orcinics)

2.2.2.2 Medios de Cultivo

- Agar Mueller Hinton (HKM)
- Agar TSA -Trypticase Soya (MERCK)
- Agar Mac Conkey (MERCK)
- Caldo Trypticase Soya (TSB)
- Agar Cetrimide (HKM)
- Citrato de Simons (Himedia)
- Agar Hierro tres azúcares (Merck)
- Agar Lisina Hierro (Merck)
- Agar Urea (MERCK)

2.2.2.3 Discos de sensibilidad

- Aztreonam 30µg ATM (Bioanalyse)
- Cefepima 30µg FEP (Bioanalyse)
- Imipenem 10µg IMP (Bioanalyse)
- Ceftazidima 30µg CAZ (Bioanalyse)
- Meropenem 10µg MEM (Bioanalyse)

- Piperacilina/Tazobactam TZP 100/10µg (Bioanalyse)
- Ceftazidima/Avibactam CZA 30/20µg (Bioanalyse)
- Ciprofloxacino 30µg CIP (EMV)
- Levofloxacino 30µg LEV (EMV)
- Ácido Etilendiaminotetracético EDTA - 750 µg (Bioanalyse)
- Ácido Borónico APB 300 µg (Bioanalyse)

2.2.2.4 Reactivos

- MgCl₂ (Promega)
- dNTPs (Promega)
- Agarosa (Clever Scientific)
- Taq ADN polimerasa marca Gotaq Flexi DNA(Promega)
- Agua PCR convencional (Promega)
- Buffer TAE 1X (Sigma)
- Marcador de peso molecular de 100pb GeneRuler (Thermo Scientific)
- Buffer GelStain (TransGen Biotech)
- Primers forward y reverse para Carbapenemasas

***bla_{KPC}* de 340 pares de bases**

F: TGT TGC TGA AGG AGT TGG GC

R:ACG ACG GCA TAG TCA TTT GC

Fuente: Caparachin y Mallqui (2020)

***bla_{VIM}* de 390 pares de bases**

F5'-GATGGTGTGTTTGGTCGCATA-3'

R5'-CGAATGCGCAGCACCAG-3'

Fuente: Candan y Aksöz (2015)

***bla_{IMP}* de 232 pares de bases**

F5'-CTACCGCAGCAGAGTCTTTG-3'

R5'-AACCAGTTTTGCCTTACCAT-3'

Fuente: Candan y Aksöz (2015)

***bla_{NDM}* de 340 pares de bases**

F: AGC ACA CTT CCT ATC TCG AC

R: GGC GTA GTG CTC AGT GTC

Fuente: Sacsquispe y Bailón (2018)

***bla_{oxa-48}* de 281 pares de bases**
F :GCTTGATCGCCCTCGATT
R: GATTTGCTCCGTGGCCGAAA
Fuente: Gurung et al., (2020)

2.2.2.5 Consumibles y fungibles

- Probeta (100ml)
- Frascos (500ml)
- Matraz Erlenmeyer de 500ml
- Placas Petri (Pyrex 90 x 15 mm)
- Tubos de tapa rosca de 5 ml

2.2.2.6 Otros materiales

- Suero fisiológico
- Glicerol (Sigma)
- Lámpara de Wood (Minsal)
- Mechero Bunsen (Chapolab)
- Pinzas
- Asa de siembra de 10μL, 1μL
- Aguja de siembra
- Papel kraft
- Tips para micropipeta de 10μL, 100μL y 1000μL
- Hisopos de algodón estériles
- Tiras de oxidasa (Merck)
- Criobox

2.3. Tipo de investigación

El presente estudio es de enfoque cuantitativo, de tipo observacional y descriptivo por su alcance, con un diseño transversal. La presente investigación corresponde a la línea

de investigación de Microbiología e Inmunología según resolución N° 691-2024-UNSAAC.

2.4. Consideraciones éticas

El protocolo de investigación fue evaluado y aprobado por el comité de Bioética Institucional de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco con código CBI- UNSAAC 2025-004 (Anexo 5).

2.5. Métodos y fundamentos

2.5.1. Coordinación institucional

Se solicitó la autorización a la Dirección del Hospital Antonio Lorena de Cusco para la obtención de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (Anexo 6). Tras la aprobación del permiso, el Laboratorio de Microbiología nos proporcionó las cepas.

2.5.2. Protocolo de identificación de cepas de *Pseudomonas aeruginosa*

2.5.2.1. Aislamiento en Agar Cetrimide y Agar MacConkey

El Agar Cetrimide es un medio selectivo que utiliza cetrimida (detergente catiónico) para inhibir el crecimiento de la mayoría de bacterias, excepto *Pseudomonas aeruginosa*. La presencia de cloruro de magnesio y sulfato de potasio en el medio favorece la producción de los pigmentos característicos, piocianina y pioverdina. Por otro lado, el Agar MacConkey se emplea para identificar bacilos Gram negativos no fermentadores de lactosa, los cuales desarrollan colonias incoloras o transparentes, permitiendo así su diferenciación primaria (López et al., 2004).

Protocolo

- Se llevó a cabo la siembra de *Pseudomonas aeruginosa* en placas de Agar Cetrimide y MacConkey mediante la técnica de estrías por agotamiento en superficie, utilizando un asa de siembra para la obtención de colonias aisladas.

- Las placas se incubaron por un periodo de 24 horas a 37°C.

2.5.2.2. Pruebas de diferenciación bioquímica

La identificación bioquímica de *Pseudomonas aeruginosa* se realizó mediante el método convencional, empleando medios bioquímicos diferenciales como Agar Citrato de Simons, Agar Hierro Triple Azúcar (TSI), Agar MIO (Motilidad, Indol, Ornitina), Agar Lisina Hierro (LIA) y Agar Urea, los cuales facilitaron la evaluación de sus propiedades metabólicas distintivas (Mayta et al., 2021).

2.5.2.3. Evaluación de la actividad enzimática (prueba de oxidasa)

La prueba de la oxidasa permite identificar a *Pseudomonas aeruginosa* por la existencia de la enzima citocromooxidasa. Este sistema facilita que el oxígeno molecular oxide al citocromo reducido, funcionando como el receptor final de electrones dentro de la cadena respiratoria (MacFaddin, 2003).

Protocolo

- Se seleccionó una colonia de *Pseudomonas aeruginosa* a partir del cultivo en Agar TSA.
- Con la ayuda de un palillo de madera, se tomó la colonia y se dispersó sobre la tira impregnada con el el reactivo de oxidasa.
- La aparición de una coloración púrpura dentro de los primeros 10 segundos se considera como un resultado positivo.

2.5.2.4. Evaluación del Crecimiento a 42°C

Pseudomonas aeruginosa presenta un desarrollo óptimo entre 25°C y 37°C; no obstante, su capacidad de desarrollarse a 42°C la distingue de otras especies del género, como *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas putida*, permitiendo además

su diferenciación de otros bacilos Gram negativos no fermentadores (Sacsquispe & Ventura, 2005).

Protocolo

- Se realizó la siembra de *Pseudomonas aeruginosa* mediante la técnica de estría por agotamiento en cuatro cuadrantes sobre las placas de Agar TSA, con la finalidad de obtener colonias aisladas.
- Las placas se incubaron a 42°C por 24 horas.

2.5.2.5. Evaluación de pigmentos fotosensibles (prueba de fluorescencia)

Esta prueba se basa en la detección de pioverdina, un sideróforo fluorescente producido por *Pseudomonas aeruginosa*. Bajo la luz ultravioleta (UV), la pioverdina reacciona emitiendo una fluorescencia característica (López et al., 2004).

Protocolo

- Se realizó la siembra de *Pseudomonas aeruginosa* mediante la técnica de estría por agotamiento sobre las placas de Agar Cetrimide, con la finalidad de obtener colonias aisladas.
- Las placas se incubaron a 37°C por 24 horas.
- Finalmente, las placas fueron examinadas mediante el uso de la lámpara de Wood con el objetivo de observar la fluorescencia emitida por *Pseudomonas aeruginosa*, la observación se realizó bajo un cobertor de aislamiento lumínico.

2.5.2.6. Criopreservación de *Pseudomonas aeruginosa*

La criopreservación consiste en el mantenimiento de materiales biológicos a temperaturas criogénicas, generalmente de -80°C, con el objetivo de inducir a un estado de latencia. No obstante, dado que la criopreservación puede generar

desequilibrio osmótico y cambios biofísicos adversos, se emplean crioprotectores como el glicerol garantizando la viabilidad del material durante periodos prolongados (Gutierrez et al., 2015).

Protocolo

De acuerdo con la metodología propuesta por Gutierrez et al. (2015):

- Las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* fueron criopreservadas en Caldo Tripticasa Soya (TSB) con glicerol al 20%.
- Antes de su almacenamiento final, los viales fueron sometidos a un enfriamiento gradual permaneciendo a -20°C durante un periodo de 24 horas.
- Finalmente, las cepas conservadas a una temperatura de -80°C.

2.5.3. Protocolo de identificación fenotípica de carbapenemasas en *Pseudomonas aeruginosa*

La identificación de microorganismos productores de carbapenemasas se basa en la ejecución de pruebas fenotípicas que facilitan la clasificación preliminar de los mecanismos de resistencia.

2.5.3.1 Evaluación del perfil de resistencia como indicador de cepas portadoras de carbapenemasas en *Pseudomonas aeruginosa*

Como fase inicial, se analizaron los resultados del perfil de resistencia para identificar fenotipos sugerentes a la producción de carbapenemasas, seleccionando aquellos aislamientos que presentaron resistencia o sensibilidad intermedia a los carbapenémicos (Remolina et al., 2021). Este tamizaje permitió priorizar aquellas cepas con mayor probabilidad de poseer mecanismos de resistencia enzimática. La interpretación de estos perfiles se realizó siguiendo los puntos de corte Según establecidos por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2025).

Protocolo

- Se procedió a la siembra de *Pseudomonas aeruginosa* en Agar Mueller Hinton mediante la técnica de estriado, garantizando una distribución uniforme del inóculo sobre la superficie.
- Los discos de sensibilidad se distribuyeron de manera equidistante sobre el medio sembrado mediante el uso de una pinza, aplicando una ligera presión para asegurar su adherencia.
- Las placas fueron incubadas a 37°C durante 24 horas. Finalizado este tiempo, se midieron los diámetros de los halos de inhibición formados alrededor de cada disco.

2.5.3.2 Detección de Carbapenemasas tipo A mediante la prueba de sinergia con ácido borónico

El ácido borónico es un inhibidor con alta afinidad por las serin carbapenemasas. Se une al sitio activo de la enzima, bloqueando así su capacidad de hidrolizar a los antibióticos (Miranda et al., 2018).

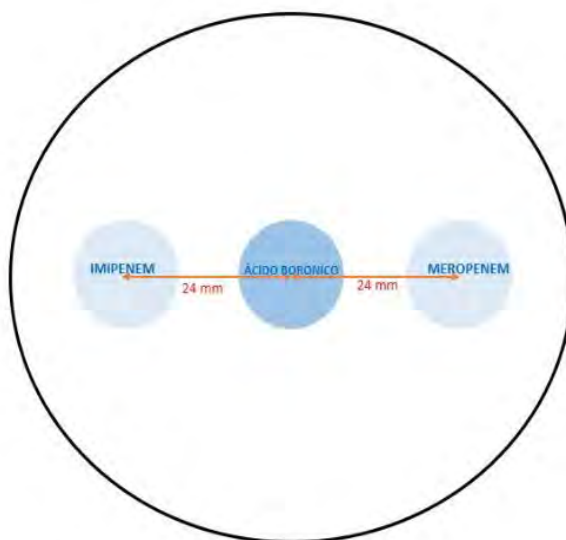
Protocolo

- Se preparó una suspensión bacteriana de *Pseudomonas aeruginosa* en solución salina estéril (NaCl 0,9%), ajustada a una turbidez equivalente al estándar 0,5 de McFarland (absorbancia entre 0,08 – 0,13 a una longitud de onda de 650 nm)
- El inóculo se distribuyó de manera uniforme sobre la superficie de placas de Agar Muller Hinton, empleando la técnica de siembra en superficie en tres direcciones con un hisopo.
- Se colocó un disco de ácido borónico (APB) en el centro de la placa; posteriormente, los discos de Imipenem y Meropenem se ubicaron a una distancia 24 mm respecto al disco de APB (Figura 4).

- La prueba se interpretó como positiva al observarse un ensanchamiento o sinergia de halo de inhibición entre los carbapenémicos y el disco de APB (Figura 5).

Figura 4

Disposición de discos en la prueba de sinergia con ácido borónico de Pseudomonas aeruginosa



Nota. Esquema de distribución de discos empleados en la detección fenotípica de carbapenemasas tipo A en *Pseudomonas aeruginosa*.

Figura 5

Detección fenotípica para Carbapenemasa tipo A



Nota. Se observa una prueba positiva para la producción de carbapenemasas tipo A (Campos, 2024).

2.5.3.3. Detección de Metallo- β -lactamasas mediante la prueba de doble disco con EDTA

El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) actúa como un agente quelante de cationes divalentes, cuyo mecanismo se basa en el secuestro de estos iones debido a su alta

afinidad. Por lo tanto, esta acción permite inhibir a las metalo- β -lactamasas mediante la remoción del zinc de su sitio activo, un cofactor esencial para su actividad catalítica (Miranda et al., 2018).

Protocolo

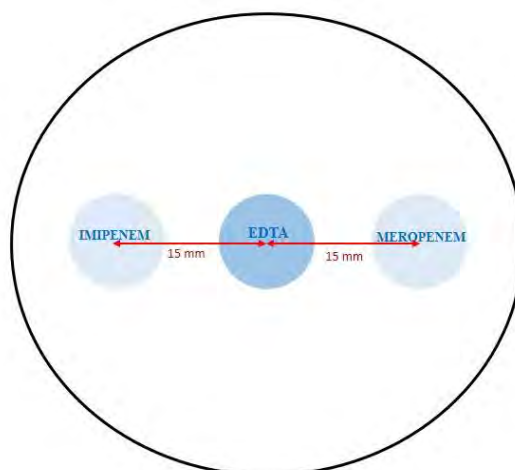
El procedimiento se realizó siguiendo el protocolo de Salvador et al. (2021):

- Se preparó una suspensión bacteriana de *Pseudomonas aeruginosa* en solución salina estéril, ajustada a una absorbancia entre 0,08 – 0,13 medida mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 650 nm.
- Se inoculó la superficie del Agar Mueller Hinton empleando un hisopo estéril humedecido con la suspensión; se utilizó la técnica de siembra en superficie en tres diferentes direcciones para asegurar una cobertura uniforme sobre la placa.
- Se colocó un disco de EDTA en el centro de la placa y a una distancia de 15 mm (de centro a centro), se ubicaron los discos de imipenem y meropenem (Figura 6).
- Las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas.

Se interpretó como resultado positivo la presencia de sinergia entre los discos de carbapenemicos y el EDTA (Figura 7), lo cual indica que la cepa podría ser portadora de alguna carbapenemasas tipo MBL.

Figura 6

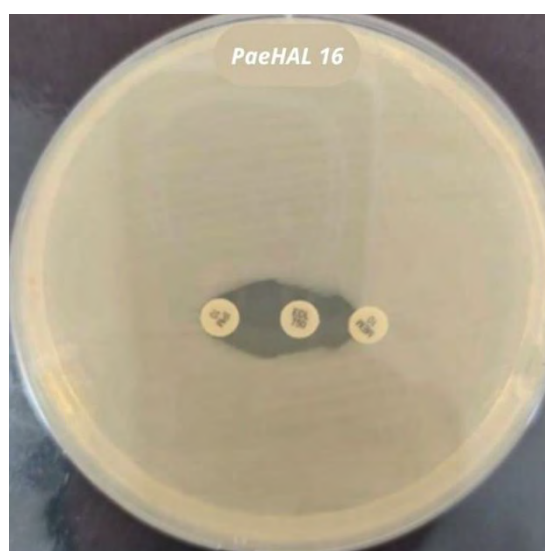
Esquema del método de la Prueba de doble disco con EDTA en *Pseudomonas aeruginosa*



Nota. Representación del método fenotípico que utiliza discos de Imipenem y Meropenem colocados a 15mm de un disco de EDTA

Figura 7

Detección fenotípica de Metallo- β -lactamasas en *Pseudomonas aeruginosa*



Nota. Se observa sinergia positiva en la cepa PaeHAL16 para la producción de Metallo- β -lactamasas

2.5.3.4 Detección de carbapenemasas tipo D mediante el test de Carba NP

El test de Carba NP es considerado un método colorimétrico, dentro de sus componentes se encuentra el rojo de fenol que es el indicador de pH, al producirse la hidrólisis del imipenem por presencia de las carbapenemasas el rojo de fenol vira de rojo a amarillo o naranja y esto se interpreta como un resultado positivo. El tiempo de

viraje depende del tipo de enzima: las carbapenemasas tipo KPC suelen detectarse entre los 2 a 30 minutos, las MBL entre 30 minutos a 1 hora, mientras que el tipo OXA requieren entre 1 y 2 horas, la interpretación se realiza según la Tabla 2. Esta prueba presenta una alta sensibilidad y especificidad que lo convierten en una herramienta esencial para el diagnóstico oportuno (Nordmann et al., 2012; Rudresh et al., 2017).

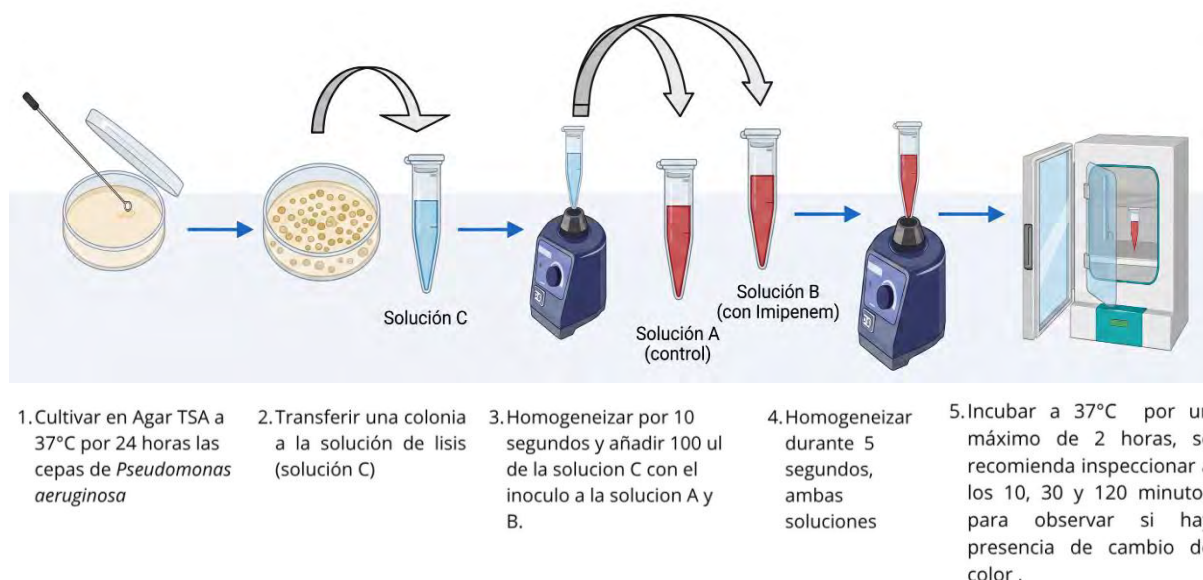
Protocolo

Se realizó siguiendo la metodología descrita por (Rudresh et al., 2017), cuyas etapas se encuentran esquematizadas en la Figura 8:

- Se prepararon 3 soluciones: reactivo A (solución de trabajo), reactivo B (solución de trabajo mas antibiótico) y el reactivo C (solución de lisis). Los detalles sobre la formulación de los reactivos se especifican en el protocolo técnico (Anexo 7).
- Se tomaron dos asadas calibradas (10 μ L) de colonias bacterianas con 24 horas de crecimiento, las cuales se inocularon en 200 μ L de la solución de lisis (Reactivo C) y se agitaron en vórtex hasta su homogeneización.
- Se transfirieron 100 μ L del lisado bacteriano obtenido a dos tubos de microcentrífuga previamente etiquetados como A (control) y B (prueba)
- Ambos tubos se incubaron a 37°C. La verificación visual de los resultados se realizó de forma periódica a los 10, 30 y 120 minutos.

Figura 8

Procedimiento del test Carba NP para Pseudomonas aeruginosa



Nota. Etapas del test Carba NP, desde el cultivo bacteriano hasta la incubación, donde el cambio de color indica la producción de carbapenemasa.

Tabla 2

Criterios de interpretación por color en el test carba NP para Pseudomonas aeruginosa

TUBO A (sin imipenem)	TUBO B (con imipenem)	Interpretación	Tiempo de reacción y enzima probable
Amarillo	Rojo o Naranja o Amarillo	Test inválido	No aplica
Rojo	Naranja	Carbapenemasa positivo	– 1 a 2 horas (sugere de OXA)
Rojo	Amarillo	Carbapenemasa positivo	– 2 a 30 minutos (Sugere de KPC)
Rojo	Rojo	Carbapenemasa negativo	– 30 minutos a 1 hora (sugere de MBL)
			Sin cambios hasta 2 horas

Nota. Criterios de interpretación del test Carba NP para la producción de carbapenemasas (Nordmann et al., 2012).

2.5.4. Protocolo para la identificación genotípica de carbapenemasas en

Pseudomonas aeruginosa

2.5.4.1. Identificación genotípica de Carbapenemasas mediante PCR convencional

La técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) contribuye a la amplificación específica de regiones del ADN utilizando cebadores o *primers*, que son secuencias de entre 15 a 30 nucleótidos encargadas de delimitar el fragmento que se replicará. Durante este procedimiento actúan diversas enzimas y se compone de

tres etapas fundamentales: la primera la desnaturalización del ADN seguido del alineamiento de los cebadores y finalmente la elongación de la nueva cadena (Diz, 2020).

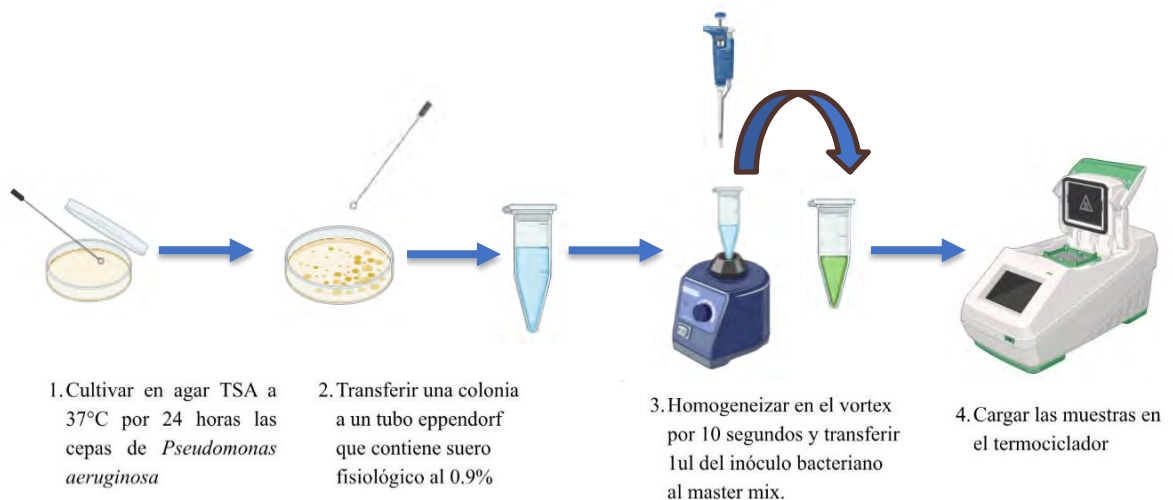
Protocolo

El procedimiento se llevo a cabo según la metodología de Requena et al. (2021):

- Las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* fueron cultivadas en agar TSA durante 24 horas a 37 °C.
- Posteriormente, se transfirió una colonia (1 µL) a un tubo eppendorf el cual contenia 1 mL de solución salina estéril al 0,9%. La suspensión fue homogeneizada, y se añadió 1 µL de esta preparación como componente de la mezcla maestra (master mix) como se observa en la Tabla 3.
- La mezcla fue sometida a lisis térmica en el termociclador a 95 °C por 10 minutos, previamente a la PCR (Figura 9).

Figura 9

Preparación de muestras para PCR en *Pseudomonas aeruginosa*



Nota. Procedimiento de preparación de muestras de *Pseudomonas aeruginosa* para PCR, desde el cultivo bacteriano hasta la carga en el termociclador.

Tabla 3

Master mix para la identificación de los genes bla_{KPC}, bla_{VIM}, bla_{NDM}, bla_{IMP} en Pseudomonas aeruginosa

Reactivos	Concentración inicial	<i>bla_{KPC}</i>		<i>bla_{VIM}</i>		<i>bla_{NDM}</i>		<i>bla_{IMP}</i>	
		Concentración final	Volumen (1X)	Concentración final	Volumen (1X)	Concentración final	Volumen (1X)	Concentración final	Volumen (1X)
Go TaqBuffer	5X	1X	5µL	1X	5 µL	1X	5 µL	1X	5 µL
MgCl ₂	25mM	2mM	2µL	2mM	2 µL	1.5mM	1.5µL	2mM	2µL
dNTPs	10mM	0.2mM	0.5µL	0.2mM	0.5 µL	0.2mM	0.5µL	0.2mM	0.5µL
Primer F	10 µM	0.5 µM	1.25µL	0.5 µM	1.25µL	0.2 µM	0.5µL	0.5 µM	0.5µL
Primer R	10 µM	0.5 µM	1.25µL	0.5 µM	1.25 µL	0.2 µM	0.5 µL	0.5 µM	0.5 µL
Taq polimerasa	5U/ µL	1.25U	0.25µL	1.0 U	0.2µL	1.0 U	0.2µL	1.0U	0.2µL
Agua PCR convencional	-	-	13.75µL	-	13.8µL	-	15,8µL	-	15.3µL
ADN bacteriano	-	-	1µL	-	1µL	-	1µL	-	1µL
Volumen total			25µL		25µL		25µL		25µL

Nota. Protocolo estandarizado y elaborado por el Laboratorio Institucional de Investigación en Microbiología e Inmunología.

2.5.4.2. Método de Boiling para el gen *bla_{OXA-48}* para *Pseudomonas aeruginosa*

El método de ebullición o Boiling es una técnica de extracción rápida de ADN que consiste en lisar células en un tampón mediante incubación a 95 – 100 °C durante 10 a 15 minutos. Este proceso libera el material genético, el cual se recupera en el sobrenadante tras centrifugación, sin requerir purificación adicional. Destaca por rapidez y versatilidad en muestras clínicas, ambientales y alimentarias (Barbosa et al., 2016).

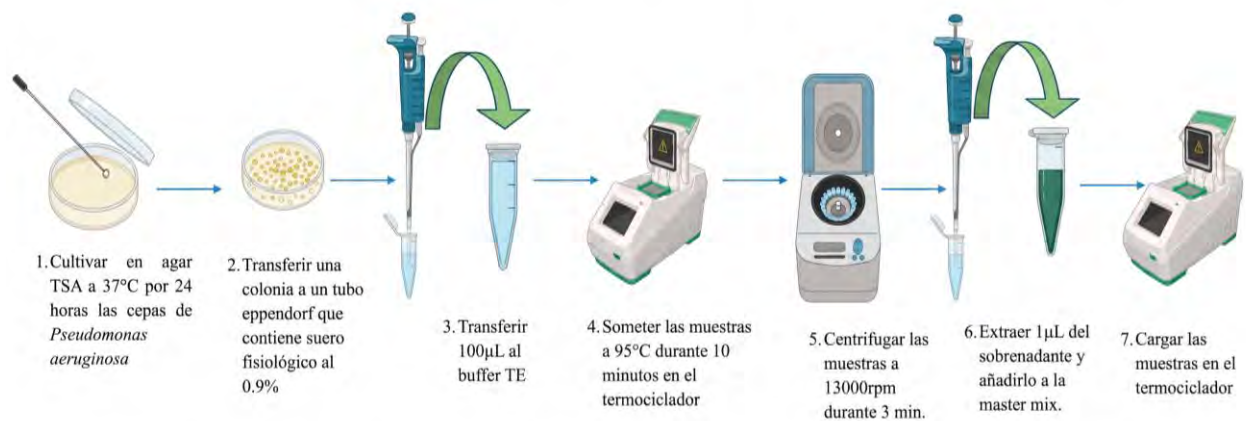
Protocolo

Para la extracción de ADN plasmidico destinado a la detección del gen *bla_{OXA-48}* se empleó la metodología propuesta por Gurung et al. (2020), la cual se detalla a continuación y se esquematiza en la Figura 10:

- Se realizó una mezcla de 100 µL de la suspensión bacteriana de *Pseudomonas aeruginosa* con 100 µL de buffer TE.
- La mezcla se sometió a ebullición en el termociclador posteriormente fue centrifugada a 13 000 rpm.
- Se tomó 1 µL del sobrenadante y se inoculó a la mezcla maestra (*master mix*), preparada según las especificaciones de la Tabla 4, para proceder con la amplificación por PCR.

Figura 10

Procedimiento del método de Boiling para el gen *bla_{OXA-48}* de *Pseudomonas aeruginosa*



Nota. Etapas del método de Boiling para la extracción de ADN, que incluyen el cultivo bacteriano, la transferencia al tampón TE, la incubación a alta temperatura, la centrifugación y la posterior obtención del ADN para su uso en PCR.

Tabla 4

Master mix para la identificación de los genes *bla_{OXA-48}* para *Pseudomonas aeruginosa*

<i>bla_{OXA-48}</i>			
Reactivos	Concentración inicial	Concentración final	Volumen (1X)
Go TaqBuffer	5X	1X	5 µL
MgCl ₂	25mM	2.5mM	2.5 µL
dNTPs	10mM	0.6mM	0.5 µL
Primer Forward	10 µM	0.5 uM	0.5µL
Primer Reverse	10 µM	0.5uM	0.5µL
Taq polimerasa	5U/ µL	1.0 U	0.2 µL
Agua PCR convencional	-	-	14.8 µL
ADN plasmídico	-	-	1 µL
Volumen final			25µL

Nota. Protocolo estandarizado y elaborado por el Laboratorio Institucional de Investigación en Microbiología e Inmunología.

2.5.4.3. Amplificación mediante la PCR conveccional.

Para amplificar el material genético de los diferentes genes de interés de la presente investigación se estableció las distintas condiciones como se observa en la Tabla 5.

- Condiciones de amplificación de genes carbapenémicos en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*

Tabla 5

Condiciones de amplificación

Codificación de amplificación	bla_{KPC}		bla_{NDM}		bla_{IMP}		bla_{VIM}		bla_{OXA-48}	
	T°	Tiempo	T°	Tiempo	T°	Tiempo	T°	Tiempo	T°	Tiempo
Extracción de ADN por lisis térmica	95°C	10 min	95°C	10 min	95°C	10 min	95°C	10 min	95°C	10 min
Desnaturalización Inicial	95°C	5 min	95°C	5 min	95°C	5 min	95°C	5 min	94°C	5 min
Número de ciclos	30		30		30		30		30	
Desnaturalización	95°C	1 min	95°C	30 seg	95°C	30 seg	94°C	1 min	94°C	30 seg
Hibridación	55°C	30 seg	55°C	30 seg	53°C	45 seg	60°C	1 min	52°C	30 seg
Extensión	72°C	45 seg	72°C	1 min	72°C	1 min	72°C	1 min	72°C	30 seg
Extensión final	72°C	10 min	72°C	10 min	72°C	7 min	72°C	7 min	72°C	5 min

Nota. Protocolo estandarizado y elaborado por el Laboratorio Institucional de Investigación en Microbiología e Inmunología.

2.5.4.4.Electroforesis

Esta técnica analítica se fundamenta en la separación de moléculas de ADN o proteínas en base a su carga eléctrica y tamaño mediante la aplicación de un campo eléctrico constante, las biomoléculas migran a través de una matriz porosa que actúa como un tamiz; esto permite que los fragmentos de menor tamaño se desplacen con mayor velocidad que los de mayor tamaño. Para la validación de los resultados y determinar el tamaño de la muestra, se emplea un marcador o patrón de referencia que sirve como estándar de comparación (Yábar, 2003).

Protocolo

De acuerdo a la metodología descrita por Amón & Ortega (2022):

- Se realizó la preparación de un gel de agarosa al 1,5% en buffer TAE 1X, integrando 10 µL de Gel Stain 1000x para la detección de los 5 genes.
- Seguidamente, se cargaron 20 µL del marcador de peso molecular en el primer pocillo; en los pocillos siguientes se colocaron los controles (positivo, negativo, blanco y agua) junto con las muestras de estudio.
- Las condiciones de corrida fueron de 90 voltios durante 1 hora. Al concluir el tiempo establecido, el gel de agarosa fue transferido a un documentador de geles para la visualización de las bandas de ADN.

2.5.4.5. Medición de las bandas de amplificación

El tamaño de los productos de amplificación de los genes fue estimado mediante la comparación de su distancia de migración frente a un marcador de peso molecular y el control positivo. Con estos datos, se construyó una curva de calibración analizando la distancia recorrida frente al peso molecular, aplicando un ajuste regresión exponencial, obteniéndose un coeficiente de correlación R cercano a 1. Este valor confirmó la fiabilidad y precisión de la interpolación para determinar el tamaño estimado de las bandas obtenidas (Shack, 2020)

CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Identificación de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* proporcionadas por el

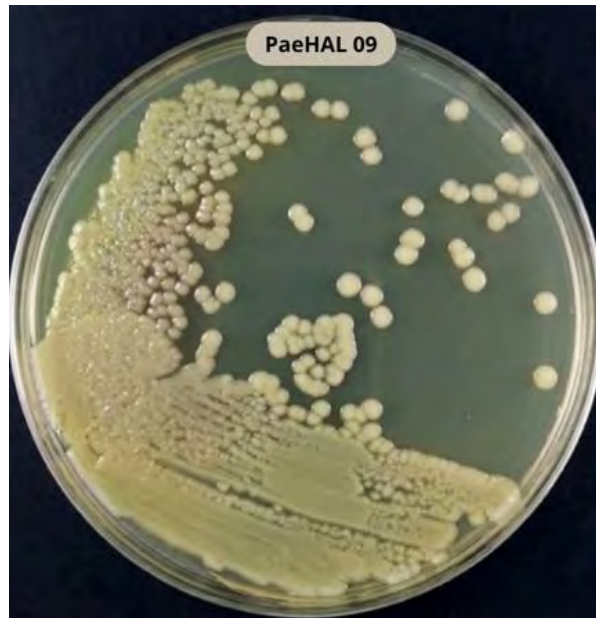
Hospital Antonio Lorena

Durante el periodo de abril a junio de 2025, el Laboratorio de Microbiología del Hospital Antonio Lorena proporcionó 37 cepas como *Pseudomonas aeruginosa*. Estos fueron codificados con el código PaeHAL, donde Pae corresponde a la bacteria en estudio y HAL al Hospital Antonio Lorena; asimismo, se asignó un número correlativo a cada cepa (Anexo 1).

Se logró identificar que el 100% de las cepas correspondían a *Pseudomonas aeruginosa*. Esta identificación se fundamentó en la evaluación de la morfología colonial en Agar Cetrimide (Figura 11 y Anexo 3) y la ausencia de fermentación de lactosa en Agar MacConkey (Figura 12). El perfil fenotípico se confirmó mediante pruebas bioquímicas convencionales (Figura 13), crecimiento a 42°C, prueba de Oxidasa y la detección de fluorescencia bajo luz ultravioleta (Figura 14).

Figura 11

Crecimiento bacteriano en Agar Cetrimide de Pseudomonas aeruginosa



Nota. Cultivo de *Pseudomonas aeruginosa* correspondiente a la cepa PaeHAL 09, se observa el crecimiento de colonias acompañada de la producción de pigmentos que colorean el medio a un tono verde amarillento.

Figura 12

Crecimiento bacteriano en Agar MacConkey de Pseudomonas aeruginosa



Nota. Cultivo de *Pseudomonas aeruginosa* correspondiente a la cepa PaeHAL 21 en Agar MacConkey, donde se observa el crecimiento de colonias no fermentadoras de lactosa, de aspecto pálido.

Figura 13

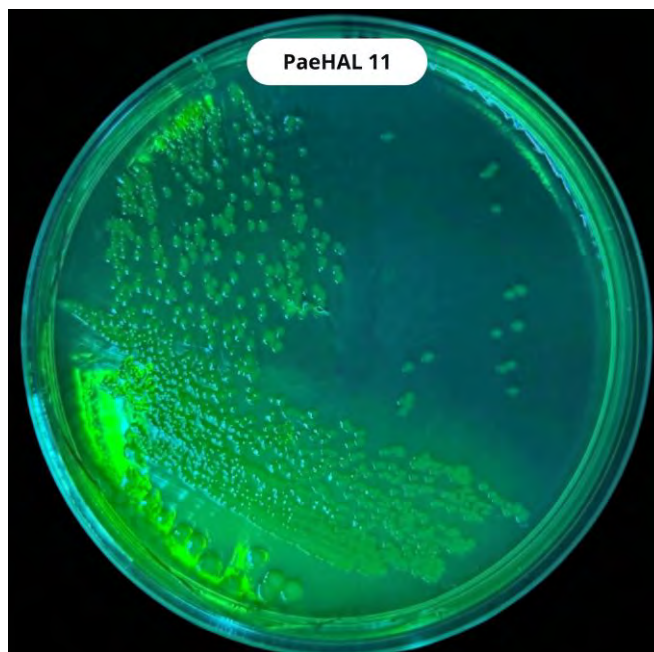
Resultado de las pruebas de diferenciación bioquímica de *Pseudomonas aeruginosa*



Nota. La figura muestra los resultados obtenidos en las pruebas bioquímicas correspondiente a la cepa PaeHAL34: TSI (K/K), LIA (K/K), Citrato (+), Motilidad (+), Indol (-) Ornitina (+), Urea (-).

Figura 14

Fluorescencia en Agar Cetrimide bajo luz ultravioleta de *Pseudomonas aeruginosa*



Nota. Se observa fluorescencia en la cepa PaeHAL 11, característica atribuida a la producción de pioverdina, un sideróforo fluorescente típico de *Pseudomonas aeruginosa*.

3.2 Identificación de cepas portadoras de carbapenemasas en *Pseudomonas aeruginosa*

Posteriormente, se evaluó la respuesta de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* en presencia de diferentes familias de antibióticos como se observa en la Tabla 6 y Anexo 4. En ella se detallan, de forma ordenada, los antibióticos agrupados por familias junto con los valores absolutos y porcentuales de cepas clasificadas como resistentes, intermedias y sensibles.

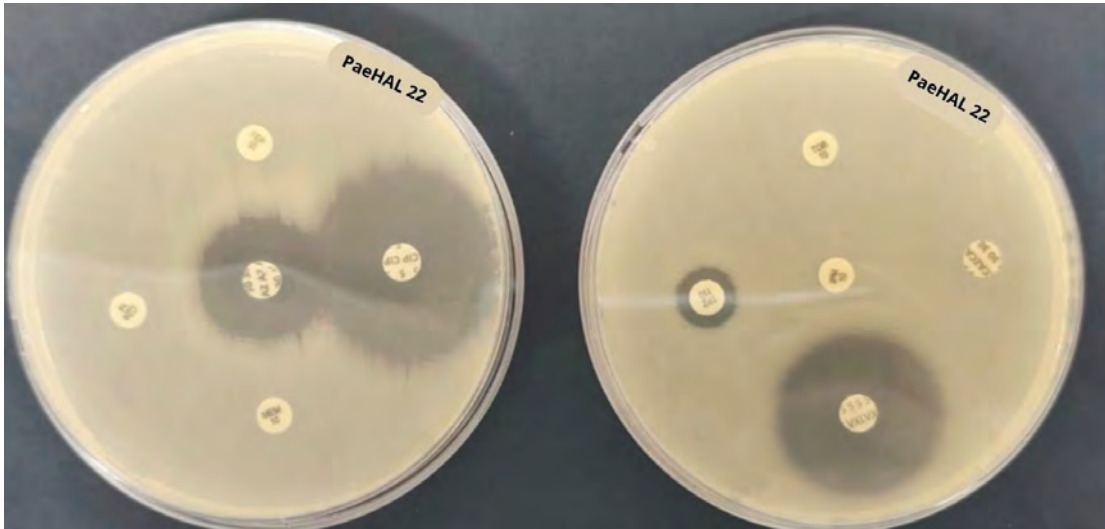
Tabla 6
Perfil de resistencia antimicrobiana de Pseudomonas aeruginosa

Familia	Antibiótico	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=37)					
		Resistente		Intermedio		Sensible	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
Cefalosporinas	Cefalosporina de 4ta generación Cefepime	26	70,3	1	2,7	10	27
	Cefalosporina de 3ra generación Ceftazidima	30	81,1	1	2,7	6	16,2
Carbapenémicos	Imipenen	32	86,5	2	5,4	3	8,1
	Meropenem	32	86,5	2	5,4	3	8,1
Fluoroquinolonas	Segunda generación Ciprofloxacino	5	13,5	0	0	32	86,5
	Tercera generación Levofloxacino	6	16,2	5	13,5	26	70,3
Monobactam	Aztreonam	11	29,7	13	35,1	13	35,1
Aminoglucósidos	Tobramicina	29	78,4	1	2,7	7	18,9
	Amikacina	1	33,3	0	0	2	66,7
Penicilina con inhibidor de β - lactamas	Piperacilina/Tazobactam	26	70,3	1	2,7	10	27
Cefalosporina con inhibidor de β - lactamasas	Ceftazidima/Avibactam	31	83,8	0	0	6	16,2

Nota. Los resultados se interpretaron siguiendo los puntos de corte establecidos por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2025)

Figura 15

Perfil de resistencia antimicrobiana de *Pseudomonas aeruginosa*



Nota. Se observa el perfil de resistencia de la cepa PaeHAL 22, el cual revela un patrón de multiresistencia frente a la mayoría de los antibióticos evaluados, con sensibilidad conservada a las fluoroquinolonas.

Los hallazgos obtenidos revelan una elevada tasa de multiresistencia que compromete a las principales familias de antimicrobianos de uso hospitalario (Figura 15). De manera crítica, los carbapenémicos (imipenem y meropenem) registraron los niveles mas altos de resistencia, alcanzando un 86,5%. Esta pérdida de suceptibilidad se extendió hacia las cefalosporinas antipseudomónicas ceftazidima (81,1%) y cefepime (70,3%), así como a la tobramicina (78,4%). Asimismo, las combinaciones con inhibidores de β -lactamasas, como Ceftazidima/Tazabactam (83,8%) y Piperacilina/Tazobactam (70,3%), mostraron una eficacia marcadamente reducida. En contraste, el Aztreonam evidenció una tasa de resistencia menor de 29,7% al igual que la amikacina (33,3%).

A nivel internacional, estos datos guardan relación con lo reportado por Ibrahim et al. (2024) en Libia, quienes registraron niveles considerables de resistencia para Imipenem (89,5%), Ceftazidima (96,5%), Piperacilina/Tazobactam (89%). De manera similar, Gadaime et al. (2024) identificaron niveles elevados de resistencia a

Ceftazidima (75,6%), Piperacilina/Tazobactam (60%). En el contexto nacional, esta problemática se torna aún mas crítica; Tickler et al. (2022) en Perú reportaron niveles de resistencia que alcanzaron el 100% para la mayoría de los β -lactámicos convencionales (carbapenémicos y cefalosporinas) y combinaciones modernas como Piperacilina/Tazobactam y Ceftazidima/Avibactam, describiendo además una resistencia moderada para aztreonam (49,6%). Asimismo, Salvador et al. (2025) reportaron en Lima cifras de resistencia del 95,8% para carbapenémicos y cefalosporinas. La consistencia de estos hallazgos a diferentes escalas geográficas refuerza la preocupación por el incremento sostenido de la multirresistencia, lo cual advierte sobre la circulación de mecanismos enzimáticos o no enzimáticos, tales como la sobreexpresión de bombas de eflujo, mutaciones en las porinas OprD, que limitan drásticamente las opciones terapéuticas convencionales.

Al respecto, Jeong et al. (2021) mencionan que las carbapenemasas de tipo A presentan un amplio espectro de hidrólisis que incluye los β -lactámicos y monobactámicos. Por el contrario, las carbapenemasas tipo B comparten este perfil extendido, pero excluyen a los monobactámicos (Aztreonam) de su actividad hidrolítica. Por su parte, las de tipo D exhiben una actividad hidrolítica relativamente baja contra los carbapenémicos en comparación con las de tipo A y B, aunque su co-producción suele complicar los tratamientos. Esta versatilidad enzimática resalta lo descrito por Giovagnorio et al. (2023), quienes mencionan que *Pseudomonas aeruginosa* es un adversario formidable en el ámbito hospitalario debido a su capacidad para combinar sus diferentes mecanismos de resistencia para evadir la acción de los agentes antimicrobianos.

A diferencia de los perfiles de multirresistencia descritos anteriormente, se evidenció una mayor sensibilidad frente a las fluoroquinolonas el Ciprofloxacino mostro un 86,5% de cepas sensibles, mientras que el Levofloxacino alcanzo un 70,3%. Estos hallazgos

difieren con lo reportado por Salvador et al. (2025) en Lima, quienes registraron un panorama diferente con altas tasas de resistencia al ciprofloxacino (87,5%).

De acuerdo con Vila & Marco (2010), la resistencia a este grupo de antimicrobianos se relacionan con mutaciones que alteran el sitio blanco de las enzimas. Al respecto, Vignoli (2018) señala que estas alteraciones ocurren en regiones específicas denominadas regiones determinantes de resistencia a quinolonas (QRDR). Un aspecto importante es que, a diferencia de las quinolonas de primera generación, la pérdida de sensibilidad hacia las fluoroquinolonas modernas suelen requerir un mecanismo más complejo, basado en la acumulación de múltiples mutaciones en los genes que codifican para estas enzimas. Bajo este escenario, es posible plantear que las cepas identificadas como sensibles a las fluoroquinolonas en el presente estudio conservan la integridad en dichas regiones QRDR.

3.3 Identificación fenotípica de carbapenemasas en cepas *Pseudomonas aeruginosa*

La identificación fenotípica de carbapenemasas se realizó mediante la aplicación de tres métodos específicos: la prueba de sinergia con ácido borónico (APB) para identificar las carbapenemasas tipo A, el método de doble disco con EDTA para las de tipo B y el test de Carba NP para las de tipo D (Tabla 7 y Figura 16).

Al analizar la prueba de sinergia con ácido borónico, se observó que el 18,9% de las cepas analizadas resultaron positivas para la producción de carbapenemasas tipo A, mientras que el 81,1% restante obtuvo un resultado negativo (Figura 17).

Tabla 7

Análisis descriptivo de identificación fenotípica de carbapenemasas en cepas Pseudomonas aeruginosa

Identificación fenotípica de carbapenemasas		Positivo		Negativo		Interpretación de pruebas positivas
Tipo de Carbapenemasas	Método	N°	%	N°	%	
Tipo A	Prueba de sinergia con ácido borónico (APB)	7	18,9	30	81,1	Fenotipo compatible con carbapenemasa tipo A
Tipo B	Método de doble disco con EDTA	33	89,2	4	10,8	Fenotipo compatible con carbapenemasa tipo B
Tipo D	Carba NP test	0	0	37	100	No se evidenció actividad compatible con carbapenemasa tipo D.

Nota: los métodos corresponden a pruebas de tamizaje fenotípico para la orientación inicial de los mecanismos de resistencia.

Figura 16

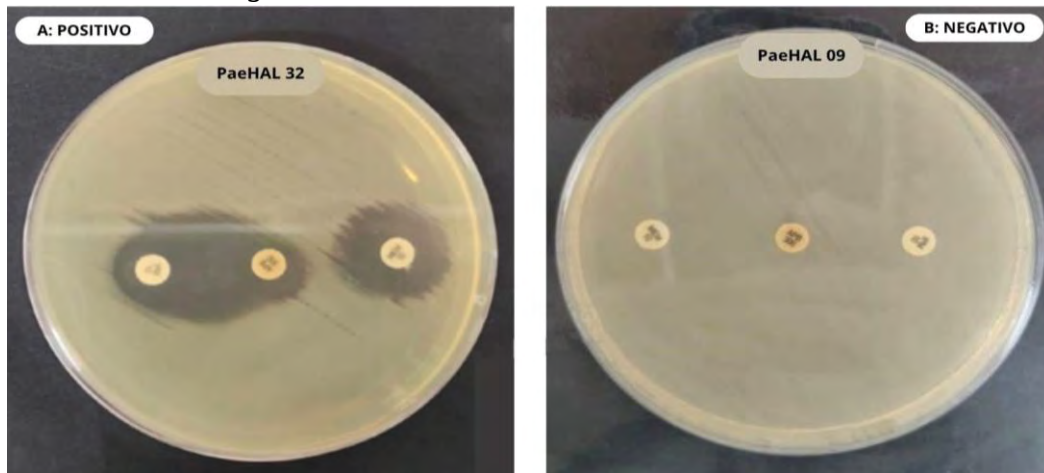
Distribución porcentual de la identificación fenotípica de carbapenemasas en Pseudomonas aeruginosa



Nota: Elaboración propia

Figura 17

Detección de carbapenemasas tipo A por la prueba de sinergia con ácido borónico en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*

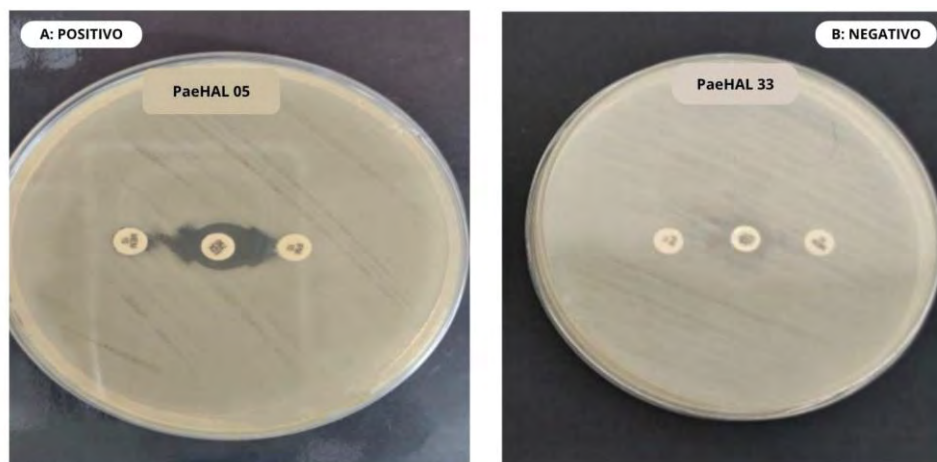


Nota. Se observa un resultado positivo en la cepa PaeHAL32 (A), evidenciándose sinergia positiva; en contraste, la cepa PaeHAL09 (B) presenta un resultado negativo ante la ausencia de sinergia.

En contraste, la prueba de doble disco con EDTA registro un mayor porcentaje de cepas positivas, alcanzando un 89,2 % frente a un 10,8% de cepas negativas. La Figura 18 muestra la diferencia fenotípica observada entre ambos resultados. Estos hallazgos sugieren un mayor predominio de mecanismos de resistencia asociados a la producción de Metallo- β -lactamasas (MBLs), frente a las carbapenemasas de tipo A.

Figura 18

Detección de carbapenemasas tipo B por la prueba de doble disco con EDTA en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*



Nota. La imagen (A) muestra un resultado positivo en la cepa PaeHAL05, evidenciado por la formación del halo de sinergia; por el contrario, en la imagen (B) se observa un resultado negativo en la cepa PaeHAL33, caracterizado por la ausencia de sinergia entre los discos.

Estos resultados difieren con lo reportado por Abanto et al. (2023) en Trujillo, quienes encontraron que el 40,3% de las cepas fueron productoras de carbapenemasas de tipo A y solo el 11,2 % correspondieron a metalo- β -lactamasas; en contraste con lo reportado por Salvador et al. (2018) en Lima informaron una prevalencia del 31,6 % de MBLs. No obstante, nuestros hallazgos que indican una alta frecuencia de MBLs, la cual se alinea con lo descrito por Grabein et al., (2024), quienes mencionan que las MBLs son las carbapenemasas predominantes a nivel de Latinoamérica.

Esta información se encuentra respaldada por Tickler et al. (2022), quienes mencionan la endemicidad de dos tipos de Metallo- β -lactamasas en el Perú y de igual manera Azam & Khan (2019), señalan que las MBLs son considerados como uno de los principales mecanismos de resistencia adquirida en *Pseudomonas aeruginosa*. Esta distribución heterogénea observada entre los estudios locales sugiere una evolución dinámica en la distribución de estas enzimas en el país, convirtiendo a las MBLs como un desafío creciente para la terapia antimicrobiana.

En este sentido, la alta frecuencia de MBLs observada en el presente estudio podría deberse a la alta circulación de cepas portadoras en el entorno hospitalario, fenómeno que se ve favorecido por la presión antibiótica existente. Esta problemática trasciende las fronteras nacionales, tal como lo menciona Viñes et al. (2024) en España, al reportar el primer caso de una variante de Metallo- β -lactamasas de tipo IMP de pacientes procedentes del Perú, poniendo en evidencia la capacidad de estas cepas para migrar a otros continentes.

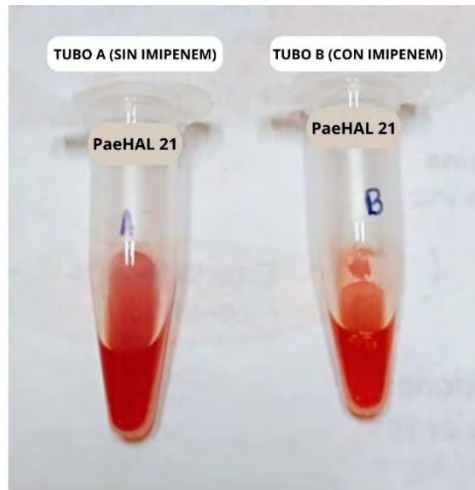
Por otro lado, mediante la prueba Carba NP, se evidenció que el 100% de las cepas fueron negativas para carbapenemasas tipo D, manteniendo la coloración roja original tras dos horas de incubación (Figura 19). A nivel nacional, estos resultados coinciden con lo

reportado por García et al. (2023) en Trujillo, quienes informaron una baja prevalencia de carbapenemasas tipo D (19,7%), con un mayor predominio de Metallo- β -lactamasas y en menor proporción carbapenemasas de tipo A. Esta tendencia es respaldada por Rivera et al. (2021), quienes señalan que las carbapenemasas de tipo D son características del orden Enterobacterales particularmente en especies como *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, siendo poco frecuentes en *Pseudomonas aeruginosa*. Estos hallazgos son consistentes con la baja frecuencia reportada de este mecanismo en *Pseudomonas aeruginosa*.

En contraste, se detectó la presencia de Metallo- β -lactamasas en el 67,4% de las cepas mediante la prueba de Carba NP (Figura 20) y en el 89,2% mediante la prueba de sinergia con EDTA. Aunque ambos métodos confirman a las MBLs como el principal mecanismo de resistencia en las cepas estudiadas, Wu et al. (2019) menciona que agentes quelantes como el EDTA pueden alterar la permeabilidad de la membrana y generar falsos positivos en las pruebas fenotípicas, lo que explicaría la mayor tasa de detección observada con esta técnica. Por su parte Cassiano et al. (2022) en Brasil validan la importancia de la prueba Carba NP, destacando que su alta sensibilidad permite diferenciar eficientemente los tipos de carbapenemasas. En conjunto, estos hallazgos posicionan a las MBLs como el desafío predominante para la terapia antimicrobiana en el contexto hospitalario.

Figura 19

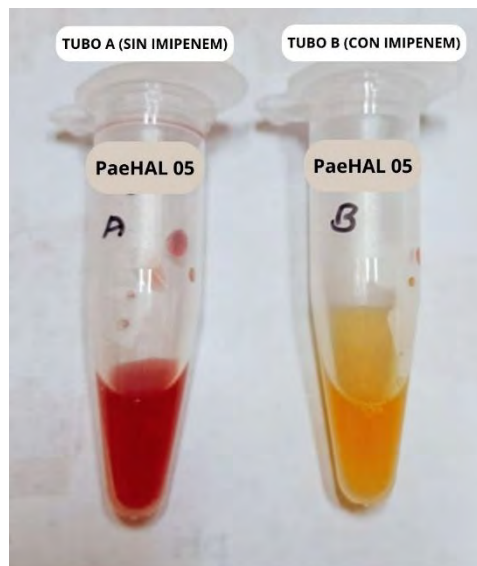
Prueba de Carba NP para la detección de carbapenemasas tipo D en *Pseudomonas aeruginosa*



Nota. Ambos tubos conservan la coloración inicial (rojo) tras dos horas de incubación, lo que confirma la ausencia de hidrólisis del imipenem. Este resultado se interpreta como negativo para la producción de carbapenemasas tipo D.

Figura 20

Prueba de Carba NP para la detección de carbapenemasas tipo B en *Pseudomonas aeruginosa*



Nota. Se observa el viraje de color del tubo B de rojo a amarillo tras 30 minutos de incubación, mientras que el tubo A (control) permanece sin cambios. Este cambio de color es sugerente a la presencia de carbapenemasas de tipo B.

3.4 Identificación genotípica por PCR convencional de genes de resistencia en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*

Con el objetivo de confirmar la presencia de genes de resistencia asociados a carbapenemasas, se realizó la identificación genotípica mediante PCR convencional. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 8, donde se detalla el porcentaje de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* positivas para los genes *bla_{KPC}* (tipo A), *bla_{VIM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{NDM}* (tipo B) y *bla_{OXA-48}* (tipo D).

Tabla 8

Análisis descriptivo de identificación genotípica de carbapenemasas en cepas de Pseudomonas aeruginosa

Identificación Genotípica de Carbapenemasas		N	Positivos	%
Tipo de carbapenemasa	Gen analizado			
Tipo A	<i>bla_{KPC}</i>	37	0	0
	<i>bla_{IMP}</i>	37	25	67,6
Tipo B	<i>bla_{VIM}</i>	37	0	0
	<i>bla_{NDM}</i>	37	0	0
Tipo D	<i>bla_{OXA-48}</i>	37	0	0

Nota: *Elaboración propia*

3.4.1 Detección del gen *bla_{KPC}* en *Pseudomonas aeruginosa*

En este análisis, se observó que las 37 cepas evaluadas resultaron negativas para la presencia del gen *bla_{KPC}*, evidenciando su ausencia en todas las cepas analizadas. En la Figura 21 se muestran los resultados obtenidos para la amplificación de dicho gen.

Figura 21

Electroforesis del producto de amplificación del gen *bla_{KPC}* en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*



Nota. Electroforesis en gel de agarosa para la detección del gen *bla_{KPC}* (340pb) en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. El carril E: marcador de peso molecular (100 pb), carril (+): control positivo (*K. Pneumoniae* ATCC BAA 2814), carril (-): control negativo (*P. aeruginosa* ATCC 27853), carril B: blanco (master mix), carril A: agua, los carriles 1 al 14 corresponden a las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* negativas para el gen *bla_{KPC}*.

La ausencia del gen *bla_{KPC}* observada en este estudio coincide con lo reportado en Brasil por Barth et al. (2025), quienes tampoco detectaron el gen *bla_{KPC}* en su investigación. Este hallazgo, sin embargo, contrasta con la realidad de otros países como Colombia y Chile, donde Remolina et al. (2021) y Tomas da costa et al. (2021) reportaron prevalencias del 75% y 52,5% respectivamente. Esta marcada heterogeneidad geográfica se alinea con lo planteado por Chen et al. (2012), quienes mencionan que países como Estados Unidos, Grecia, Israel, Puerto Rico, Colombia y la provincia de Zhejiang (China) son considerados zonas endémicas, mientras que países como Brasil, Argentina y Australia han reportado casos esporádicos.

A nivel nacional, estos resultados concuerdan con lo descrito por Mayta et al. (2021), quienes no identificaron el gen *bla_{KPC}* en *Pseudomonas aeruginosa*, pero sí reportaron su presencia en *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. Estos hallazgos

sugieren que, para el caso específico de *Pseudomonas aeruginosa*, el gen *bla_{KPC}* no es predominante en la región.

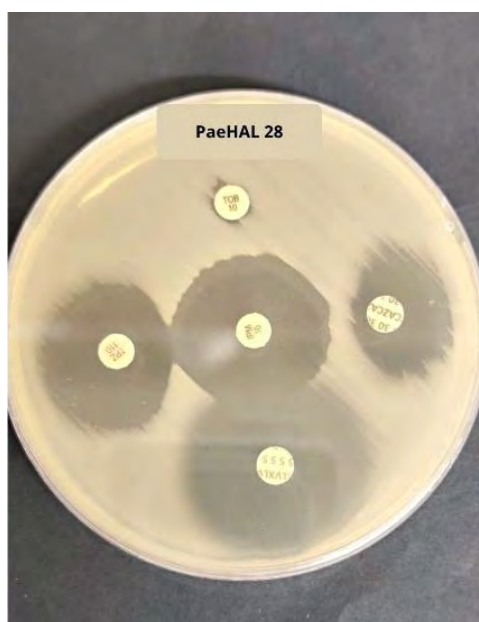
Aunque el gen *bla_{KPC}* no se detectó en las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* evaluadas, su circulación activa en el mismo entorno hospitalario fue confirmada en aislados de *Klebsiella pneumoniae* por Aguilar et al. (2025). Dado que las carbapenemasas de clase A se asocian frecuentemente a elementos genéticos móviles, la coexistencia de ambos patógenos bajo la presión selectiva hospitalaria representa un riesgo latente de transferencia horizontal (Salvador et al., 2021). En el contexto nacional, Mayta et al. (2025) reportaron este gen en *Pseudomonas aeruginosa* con una baja prevalencia (1,3%) en otras regiones. Por lo tanto, la ausencia observada en este estudio podría atribuirse a esta baja prevalencia; sin embargo, no se descarta la posible circulación de otras variantes no reconocidas por los primers empleados, o bien que la resistencia esté mediada por otras carbapenemasas de clase A no incluidas en la investigación.

En relación con la detección de carbapenemasas tipo A mediante la prueba de sinergia con ácido borónico, se observó discrepancia entre los resultados fenotípicos y los obtenidos por PCR. Mientras la prueba fenotípica evidenció la posible presencia de esta enzima, la detección molecular confirmó su ausencia en la totalidad de las cepas estudiadas. Esto fenómeno coincide con lo reportado por Elsherif et al. (2016) en Egipto, quienes hallaron en sus resultados falsos positivos en la prueba de APB, los cuales estaban asociados a cepas productoras de AmpC. Si bien Pasteran et al. (2011) señalan que este método posee una sensibilidad y especificidad del 97%, advierten que las cepas hiperproductoras de AmpC pueden generar falsos positivos en la prueba. Al respecto, Tsakris et al. (2008) explican que la especificidad del ensayo puede verse reducida, debido a que el ácido borónico actúa como un inhibidor

inespecífico que bloquea tanto a las carbapenemasas de tipo A como a la cefalosporinasa AmpC. Por lo tanto, los resultados fenotípicos positivos observados en el presente estudio podrían ser atribuidos a la desrepresión de la AmpC cromosómica propia de *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 22) y no a la presencia del gen como tal.

Figura 22

Fenotipo compatible con la producción de AmpC inducible en *Pseudomonas aeruginosa*



Nota. La cepa PaeHAL28 presenta un fenotipo compatible con la expresión de AmpC inducible, utilizando imipenem como inductor y ceftazidima con Piperacilina/Tazobactam como reveladores. El resultado se confirma por el truncamiento o aplanamiento de los halos de inhibición en los antibióticos reveladores frente al disco inductor.

3.4.2 Detección del gen *bla*_{IMP} en *Pseudomonas aeruginosa*

En la presente investigación, el 67,6% (25) de las cepas analizadas resultaron positivas para el gen *bla*_{IMP}. Este hallazgo se sitúa dentro de la tendencia de incremento nacional reportada en estudios epidemiológicos recientes, donde se observa un incremento nacional desde el 17,3% (Mayta et al., 2021) hasta el 63,3% (Mayta et al., 2025). Si bien existen diferencias en el alcance epidemiológico y el diseño metodológico entre un monitoreo nacional multicéntrico y el presente estudio, resalta que en el reporte de

Mayta et al. (2025), *Pseudomonas aeruginosa* en la región de Cusco representaba solo el 1,0% (4 aislamientos) del total de esta especie evaluada a nivel nacional ($n = 418$), en los cuales el gen *bla*_{IMP} fue el único determinante identificado. En este sentido, aunque nuestro porcentaje es numéricamente menor al 95,8% reportado por Salvador et al. (2025) en un nosocomio de la capital, nuestros resultados expanden y refuerzan la evidencia local con una muestra focalizada, ratificando que el gen *bla*_{IMP} constituye el mecanismo de resistencia predominante en nuestro entorno. Estos datos se alinean con lo descrito por la Organización Panamericana de la Salud (2020), la cual identifica a este gen como el principal factor asociado a la resistencia a carbapenémicos en *Pseudomonas aeruginosa* en el Perú, con reportes que alcanzan el 94%. De igual manera, Tickler et al. (2022) corroboran esta tendencia al mencionar una aparente endemicidad de clones de alto riesgo de *Pseudomonas aeruginosa* que albergan variantes específicas del gen *bla*_{IMP}.

Clinicamente, estas metalo- β -lactamasas inactivan casi la totalidad de los β -lactámicos debido a su amplio espectro de hidrólisis (Giovagnario et al. 2023). Adicionalmente, al localizarse en elementos genéticos móviles, suelen coexistir con otros genes de resistencia, otorgando a *Pseudomonas aeruginosa* un perfil de multiresistencia extendido frente a familias de no β -lactámicos, lo que conduce al fracaso terapéutico en las infecciones intrahospitalarias (Elfadadny et al. 2023).

Por lo tanto, estos resultados aportan evidencia local que respalda la endemicidad de las metalo- β -lactamasas de tipo IMP, consolidándose como el principal mecanismo de resistencia a carbapenémicos en la población bacteriana estudiada. La predominancia de este gen conlleva implicaciones epidemiológicas críticas, tales como favorecer su circulación activa entre diferentes aislamientos clínicos y servicios de hospitalización, potenciar la transferencia horizontal de genes hacia otras cepas bacterianas y

finalmente elevar el riesgo de aparición de brotes intrahospitalarios bajo la presión selectiva del nosocomio.

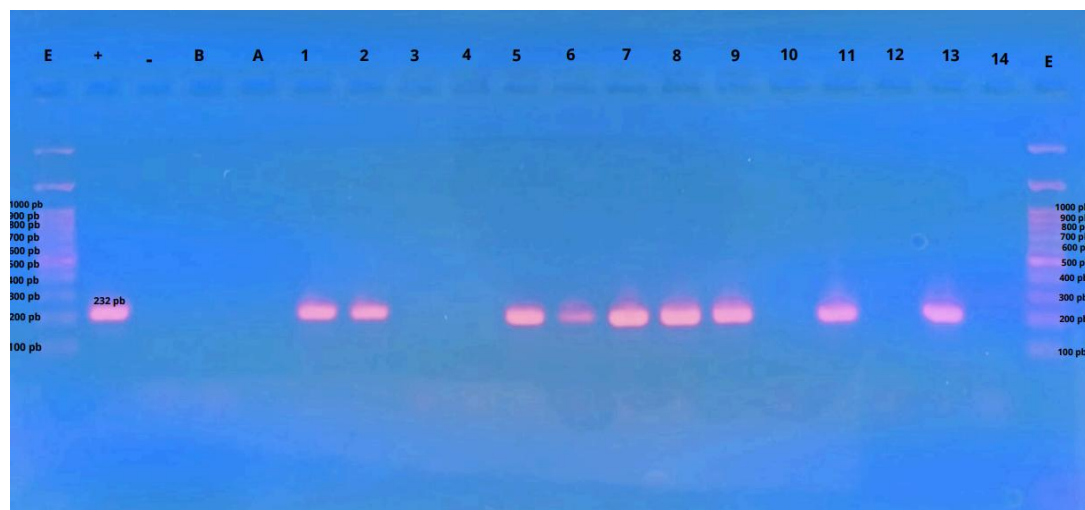
Por otro lado, se observaron discrepancias entre los resultados fenotípicos y genotípicos, mientras que la prueba de sinergia con EDTA sugirió la presencia de metalo- β -lactamasas en el 89,2 % de las cepas, la PCR confirmó el gen *bla_{IMP}* en el 67,6%. Esta diferencia podría deberse a las limitaciones inherentes del EDTA, el cual genera falsos positivos en bacilos no fermentadores como *Pseudomonas aeruginosa* (Wu et al. 2019; Ting et al., 2009). Al ser un quelante inespecífico, el EDTA altera la permeabilidad de la membrana externa y disminuye la expresión de la porina OprD; estos efectos secundarios modifican el flujo del antibiótico y simulan una inhibición enzimática en ausencia del gen. Por lo tanto, este impacto inespecífico del quelante o la posible presencia de otras metalo- β -lactamasas de clase B no incluidas en el estudio explicarían los casos positivos por sinergia pero negativos en la PCR.

Por el contrario, la prueba Carba NP evidenció concordancia con el análisis molecular. Al respecto, Dortet et al. (2012) mencionan que la prueba Carba NP presenta una especificidad del 100% y una sensibilidad del 94,4%, consolidándose como una opción confiable y rápida especialmente en entornos con recursos limitados.

Finalmente, la confirmación genotípica se validó mediante electroforesis en gel de agarosa. Los fragmentos amplificados mostraron concordancia con el tamaño esperado (232pb) al realizar la comparación con el marcador de peso molecular y el control positivo (Figuras 23 al 28). Los resultados detallados se presentan en las Tablas 9 al 14.

Figura 23

Electroforesis del producto de amplificación del gen *bla_{IMP}* en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*



Nota. Electroforesis en gel de agarosa para la detección del gen *bla_{IMP}* (232 pb). El carril E: marcador de peso molecular de 100 pb, carril (+): control positivo (*E. coli* NCTC 13476), carril (-): control negativo (*P. aeruginosa* ATCC 27853), carril B: blanco (master mix), carril A: agua, carriles (1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 11 y 13): corresponden a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* positiva para el gen *bla_{IMP}*, carriles (3, 4, 10, 12 y 14): corresponden a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* negativas para el gen.

Tabla 9

Calibración de la resolución de bandas del marcador molecular de electroforesis para el primer gel *bla_{IMP}*

PRIMER GEL				
Cero	Migración banda (px)	Migración - Cero	Tamaño banda (Kb)	Tamaño de la banda (pb)
89.14	174.14	85	1.2	1200
89.14	220.14	131	1.1	1100
89.14	255.14	166	1.0	1000
89.14	266.14	177	0.9	900
89.14	276.14	187	0.8	800
89.14	292.14	203	0.7	700
89.14	306.14	217	0.6	600
89.14	321.14	232	0.5	500
89.14	340.14	251	0.4	400
89.14	363.14	274	0.3	300
89.14	395.14	306	0.2	200
89.14	435.14	346	0.1	100

Figura 24
Ecuación para la estimación de la medición de bandas amplificadas en el primer gel bla_{IMP}

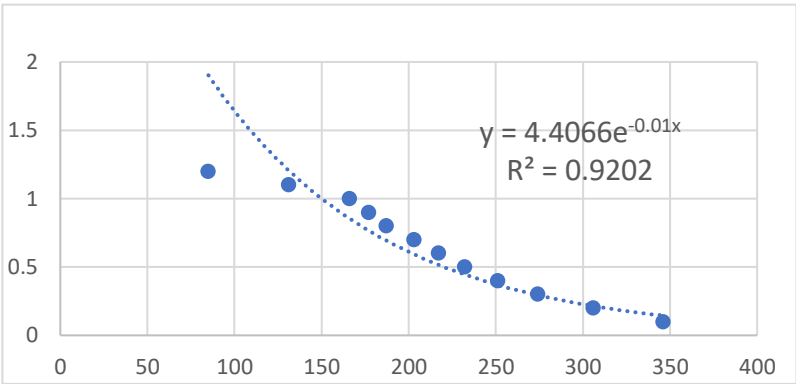
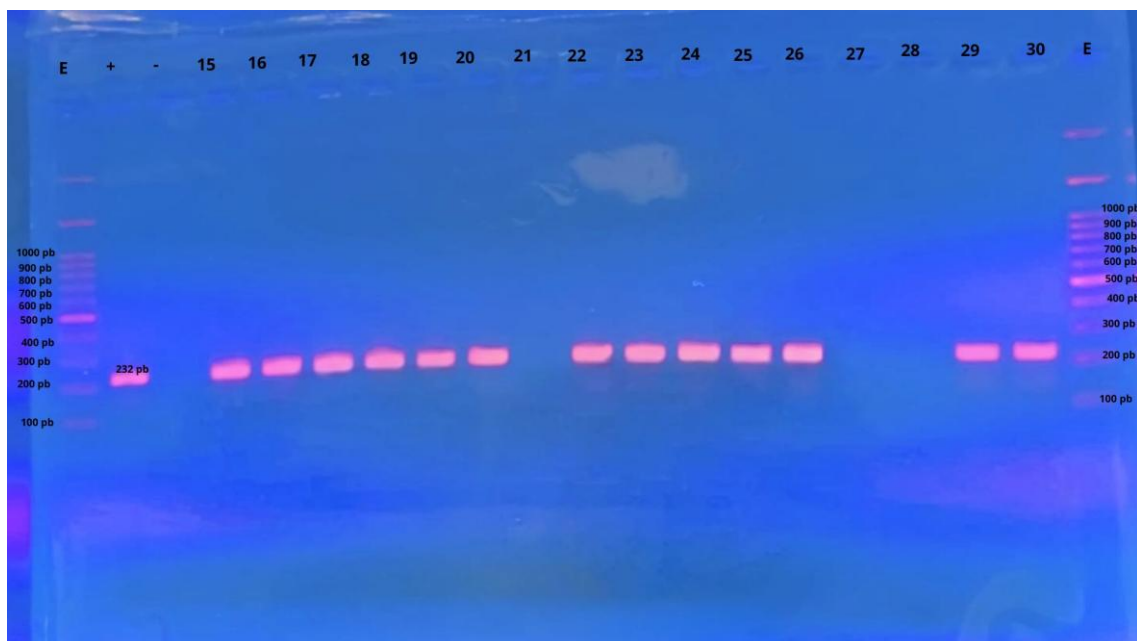


Tabla 10
Estimación de bandas amplificadas del gen bla_{IMP} en Pseudomonas aeruginosa (Gel 1)

	MARCADOR DE PESO MOLECULAR	CARRILES																		MARCADOR DE PESO MOLECULAR
	CONTROLES																			
						MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3	MUESTRA 4	MUESTRA 5	MUESTRA 6	MUESTRA 7	MUESTRA 8	MUESTRA 9	MUESTRA 10	MUESTRA 11	MUESTRA 12	MUESTRA 13	MUESTRA 14	
	CARRIL 1	CARRIL 2	CARRIL 3	CARRIL 4	CARRIL 5	CARRRIL 6	CARRRIL 7	CARRRIL 8	CARRRIL 9	CARRRIL 10	CARRRIL 11	CARRRIL 12	CARRRIL 13	CARRRIL 14	CARRRIL 15	CARRRIL 16	CARRRIL 17	CARRRIL 18	CARRRIL 19	CARRIL 20
	E	(+)	(-)	B	A	PaeHAL 01	PaeHAL 02	PaeHAL 03	PaeHAL 04	PaeHAL 05	PaeHAL 06	PaeHAL 07	PaeHAL 08	PaeHAL 09	PaeHAL 10	PaeHAL 11	PaeHAL 12	PaeHAL 13	PaeHAL 14	E
Tamaño en píxeles (px) del gel de agarosa	-	382.362	-	-	-	382.100	383.980	-	-	382.763	385.71	383.636	383.57	383.22	-	383.361	-	383.217	-	-
Ecuación $y = a.e^{b.x}$	-	0.23244	-	-	-	0.23539	0.23100	-	-	0.23383	0.22704	0.23180	0.23119	0.23227	-	0.23244	--	0.23277	-	--
Medida de bandas en pb	-	232	-	-	-	235	231	-	-	234	227	232	232	233	-	232	-	233	-	-

Figura 25

Electroforesis del producto de amplificación del gen bla_{IMP} en cepas de Pseudomonas aeruginosa



Nota. Electroforesis en gel de agarosa para la detección del gen *bla_{IMP}* (232 pb). El carril E: marcador de peso molecular (100 pb), carril (+): control positivo (*E. coli* NCTC 13476), carril (-): control negativo (*P. aeruginosa* ATCC 27853), carriles (15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 29, 30): corresponden a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* positiva para *bla_{IMP}*, carriles (21, 27 y 28): corresponden a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* negativas para *bla_{IMP}*

Tabla 11

Calibración de la resolución de bandas del marcador molecular de electroforesis para el segundo gel bla_{IMP}

SEGUNDO GEL				
Cero	Migración banda (px)	Migración - Cero	Tamaño banda (Kb)	Tamaño de la banda (pb)
45.71	100.70	54.99	1.2	1200
45.71	131.70	85.99	1.1	1100
45.71	153.70	107.99	1	1000
45.71	160.70	114.99	0.9	900
45.71	167.70	121.99	0.8	800
45.71	177.70	131.99	0.7	700
45.71	186.70	140.99	0.6	600
45.71	197.70	151.99	0.5	500
45.71	210.70	164.99	0.4	400
45.71	227.70	181.99	0.3	300
45.71	247.70	201.99	0.2	200
45.71	270.70	224.99	0.1	100

Figura 26
Ecuación para la estimación de la medición de bandas amplificadas en el segundo gel bla_{IMP}

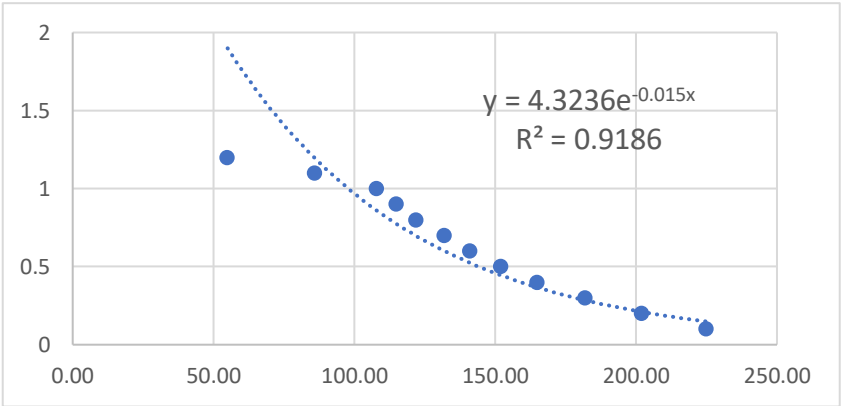
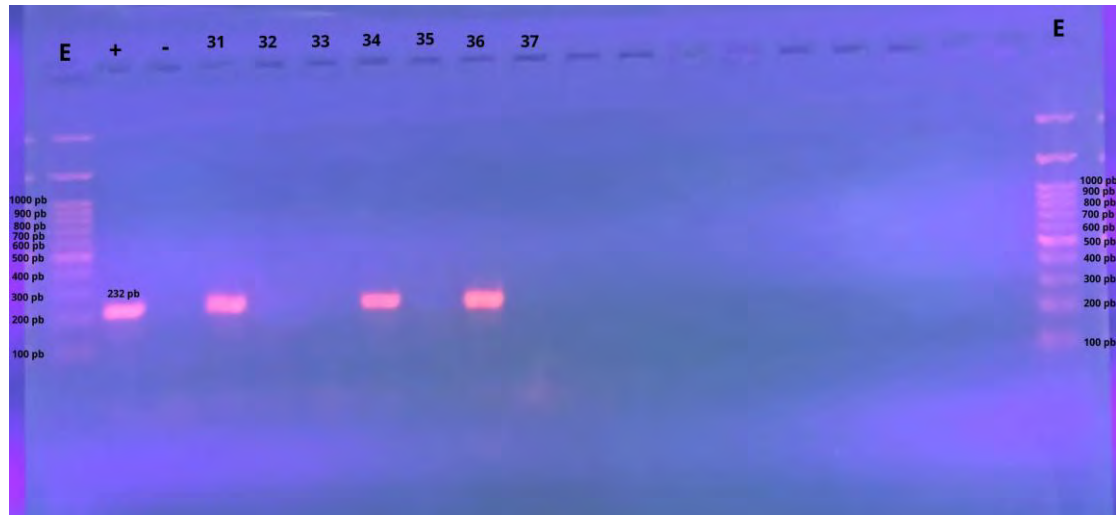


Tabla 12
Estimación de bandas amplificadas del gen bla_{IMP} en Pseudomonas aeruginosa (Gel 2)

	MARCADOR DE PESO MOLECULAR	CONTROLES			CARRILES																MARCADOR DE PESO MOLECULAR
					MUESTRA 15	MUESTRA 16	MUESTRA 17	MUESTRA 18	MUESTRA 19	MUESTRA 20	MUESTRA 21	MUESTRA 22	MUESTRA 23	MUESTRA 24	MUESTRA 25	MUESTRA 26	MUESTRA 27	MUESTRA 28	MUESTRA 29	MUESTRA 30	
	CARRIL 1	CARRIL 2	CARRIL 3	CARRIL 4	CARRIL 5	CARRIL 6	CARRIL 7	CARRIL 8	CARRIL 9	CARRIL 10	CARRIL 11	CARRIL 12	CARRIL 13	CARRIL 14	CARRIL 15	CARRIL 16	CARRIL 17	CARRIL 18	CARRIL 19	CARRIL 20	
	E	(+)	(-)	PaeHAL 15	PaeHAL 16	PaeHAL 17	PaeHAL 18	PaeHAL 19	PaeHAL 20	PaeHAL 21	PaeHAL 22	PaeHAL 23	PaeHAL 24	PaeHAL 25	PaeHAL 26	PaeHAL 27	PaeHAL 28	PaeHAL 29	PaeHAL 30	E	
Tamaño en pixeles (px) del gel de agarosa	-	240.67	-	241.30	240.57	239.529	239.50	239.46	240.425	-	240.36	241.32	242.249	241.25	222.68	-	-	240.104	239.65	--	
Ecuación $y = a.e^{b \cdot x}$	-	0.23216	-	0.22998	0.23252	0.23617	0.23628	0.23641	0.23301	-	0.23326	0.22991	0.22672	0.23015	0.23388	-	--	0.23414	0.23557		
Medida de bandas en pb	-	232	-	230	233	236	236	236	233	-	233	230	226	230	234	-		234	236	-	

Figura 27

Electroforesis del producto de amplificación del gen *bla_{IMP}* en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*



Nota. Electroforesis en gel de agarosa para la detección del gen *bla_{IMP}* (232pb) en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. El carril E: marcador de peso molecular de 100 pb, carril (+): control positivo (*E. coli* NCTC 13476), carril (-): control negativo (*P. aeruginosa* ATCC 27853), carriles (31, 34, 36): corresponden a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* positivas para *bla_{IMP}*, carriles (32, 33 y 35): corresponden a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* negativa para *bla_{IMP}*

Tabla 13

Calibración de la resolución de bandas del marcador molecular de electroforesis para el tercer gel *bla_{IMP}*

TERCER GEL				
Cero	Migración banda (px)	Migración - Cero (px)	Tamaño banda (Kb)	Tamaño de la banda (pb)
41.94	103.94	62.00	1.2	1200
41.94	137.94	96.00	1.1	1100
41.94	163.94	122.00	1.0	1000
41.94	170.94	129.00	0.9	900
41.94	178.94	137.00	0.8	800
41.94	186.94	145.00	0.7	700
41.94	199.94	158.00	0.6	600
41.94	211.94	170.00	0.5	500
41.94	227.94	186.00	0.4	400
41.94	244.94	203.00	0.3	300
41.94	267.94	226.00	0.2	200
41.94	296.94	255.00	0.1	100

Figura 28
Ecuación para la estimación de la medición de bandas amplificadas en el tercer gel bla_{IMP}

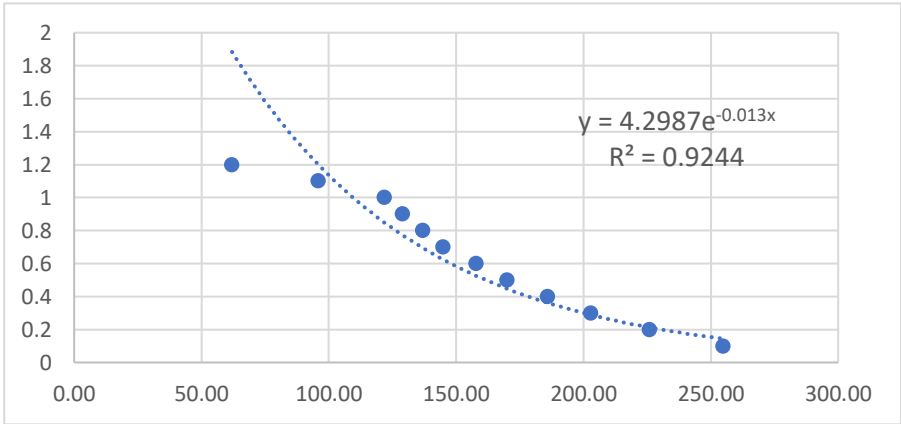


Tabla 14
Estimación de bandas amplificadas del gen bla_{IMP} en Pseudomonas aeruginosa (Gel 3)

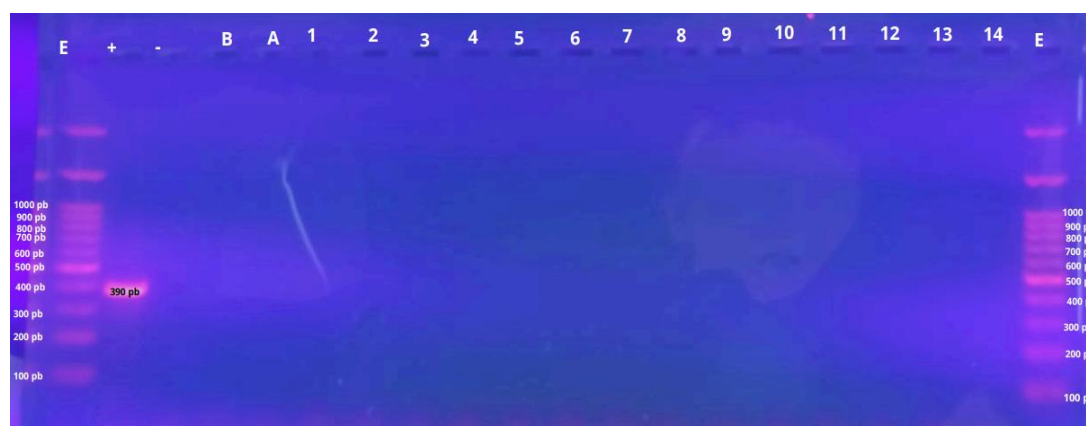
	MARCADOR DE PESO MOLECULAR	CONTROLES			CARRILES																MARCADOR DE PESO MOLECULAR
		MUESTRA 31	MUESTRA 32	MUESTRA 33	MUESTRA 34	MUESTRA 35	MUESTRA 36	MUESTRA 37													
		CARRIL 1	CARRIL 2	CARRIL 3	CARRIL 4	CARRIL 5	CARRIL 6	CARRIL 7	CARRIL 8	CARRIL 9	CARRIL 10	CARRIL 11	CARRIL 12	CARRIL 13	CARRIL 14	CARRIL 15	CARRIL 16	CARRIL 17	CARRIL 18	CARRIL 19	
	E	(+)	(-)	PaeHAL31	PaeHAL32	PaeHAL33	PaeHAL34	PaeHAL35	PaeHAL36	PaeHAL37											E
Tamaño en píxeles (px) del gel de agarosa	-	266.614	--	265.80	-	-	265.614	-	222.761	-	-	-	-	-	-		--	-	-		
Ecuación $y = a \cdot e^{b \cdot x}$	-	0.23166	-	0.23412	--	-	0.23469		0.23356	-	-	-		--	--	--	-	-	-	-	
Medida de bandas en pb	-	232		234	-	-	235	-	234	-			-		-		-	-	-	-	

3.4.3 Detección del gen *bla_{VIM}* en *Pseudomonas aeruginosa*

De las 37 muestras analizadas mediante PCR el 100% de las cepas resultaron negativas, lo que confirma la ausencia de este gen. En la Figura 29 se observan los resultados obtenidos:

Figura 29

*Electroforesis del producto de amplificación del gen *bla_{VIM}* en cepas de *Pseudomonas aeruginosa**



Nota. Electroforesis en gel de agarosa para la detección del gen *bla_{VIM}* (390pb) en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. Carril E: marcador de peso molecular de 100 pb, carril (+): control positivo (*K. pneumoniae* NCTC 13440), carril (-): control negativo (*P. aeruginosa* ATCC 27853), B: Blanco (master mix), A: agua, carriles (1 al 14): corresponden a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* negativas al gen *bla_{VIM}*

Respecto al gen *bla_{VIM}*, los hallazgos de esta investigación difieren con lo reportado por Martínez et al. (2023) en México y Tomás da Costa et al. (2021) en Chile, quienes registraron prevalencias del 59,6% y 47,5%, respectivamente. En el contexto nacional, la frecuencia es notablemente menor; Angles et al. (2020) reportaron apenas un 4,8% de cepas portadoras, mientras que Mayta et al. (2021) reportó un 7,0% de positividad, registrando además la primera co-existencia de los genes *bla_{IMP}/bla_{VIM}* en el Perú (7,6%).

Si bien estudios mas recientes como el de Mayta et al. (2025) muestran un incremento en la detección del gen *bla_{VIM}* (15%) y de la asociación *bla_{IMP}/bla_{VIM}* (19%) a nivel multiregional, es importante destacar que ninguno de estos casos fue reportado para

la región Cusco. Estos valores evidencian una presencia emergente del gen en el país; no obstante, según Hong et al. (2015) y Matsumura et al. (2017), las variantes del gen *bla_{VIM}* se encuentran distribuidas principalmente en Europa y África. En base a esta información, es posible inferir que aunque existe una tendencia al ascenso nacional, la distribución de este gen en la zona sur del país sigue siendo limitada. Esto explicaría la ausencia del gen en las cepas analizadas. No obstante, no se descarta la presencia de otros genes de resistencia poco comunes de la clase B que no fueron objeto de estudio en esta investigación.

3.4.4 Detección del gen *bla_{NDM}* en *Pseudomonas aeruginosa*

La detección correspondiente al gen *bla_{NDM}* evidenció que la totalidad de las muestras procesadas fueron negativas (100%), este resultado refleja la ausencia de este gen (Figura 30).

Figura 30

*Electroforesis del producto de amplificación del gen *bla_{NDM}* en cepas de *Pseudomonas aeruginosa**



Nota. Electroforesis en gel de agarosa para la detección de gen *bla_{NDM}* (512pb) en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. El carril E: marcador de peso molecular de 100pb, carril (+): control positivo (*K. pneumoniae* ATCC BAA 2146), carril (-): control negativo (*P. aeruginosa* ATCC 27853), carril B: blanco (master mix), carril A: Agua, carriles (1 al 14): corresponden a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* negativa para *bla_{NDM}*.

Los resultados obtenidos en esta investigación concuerdan con lo reportado por Remolina et al. (2021) en Chile, quienes tampoco detectaron cepas portadoras del

gen *bla*_{NDM}. En contraste, Mayta et al. (2021) reportaron la presencia de este gen en el Perú, describiendo una mayor frecuencia en *Klebsiella pneumoniae* distribuida en 6 regiones del país, siendo Cusco una de ellas; asimismo, evidenciaron una proporción significativamente menor en aislados de *Pseudomonas aeruginosa* (1,1%). Para el año 2025, el mismo autor reportó un ligero incremento (1,7%) de cepas portadoras en *Pseudomonas aeruginosa*, manteniendo un marcado predominio dentro del grupo de los Enterobacterales. En esa misma línea, Angles et al. (2020) en el Perú informaron que, dentro del grupo de las Enterobacterias, el gen *bla*_{NDM} predominaba, no habiendo detectado su presencia en *Pseudomonas aeruginosa*.

De acuerdo con Wu et al. (2019), países como Egipto, India, Pakistan y Serbia presentan una alta la prevalencia de cepas portadoras del gen *bla*_{NDM}; mientras tanto, en Sudamérica, aunque se ha documentado su presencia, la frecuencia suele ser inferior. Esta distribución geográfica, sugiere que su ausencia en el presente estudio podría deberse a la baja circulación local. Si bien está demostrado que el gen *bla*_{NDM} circula en la región Cusco, su presencia se concentra mayoritariamente en los Enterobacterales, lo que indicaría que este mecanismo de resistencia aun no se ha diseminado de manera significativa a *Pseudomonas aeruginosa*.

3.4.5 Detección del gen *bla*_{OXA-48} en *Pseudomonas aeruginosa*

El análisis molecular mediante la técnica de PCR para la identificación del gen *bla*_{OXA-48} evidenció que la totalidad de las muestras (100%) fueron negativas. Como se observa en la Figura 31.

Figura 31

Electroforesis del producto de amplificación del gen *bla_{OXA-48}* en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*



Nota. Electroforesis en gel de agarosa para la detección del gen *bla_{OXA-48}* (281 pb) en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. carril E: marcador de peso molecular de 100pb, carril (+): control positivo (*E. coli* ATCC BAA 2523), carril (-): control negativo (*P. aeruginosa* ATCC 27853), carril B: blanco (master mix), carril A: agua, carriles (1 al 14): corresponden a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* negativas para el gen *bla_{OXA-48}*

Este hallazgo evidencia que ninguna de las 37 cepas estudiadas porta el gen *bla_{OXA-48}*,

Al respecto Boyd et al. (2022) mencionan que este gen raramente se ha identificado en *Pseudomonas aeruginosa*. De igual manera, Espinoza & Esparza (2021) indican que, hasta la fecha se han reportado pocos casos de carbapenemasas tipo OXA en esta especie. Esta información es respaldada a nivel nacional por el estudio de Mayta et al. (2025), quienes tampoco hallaron cepas de *Pseudomonas aeruginosa* portadoras de genes tipo OXA. A partir de esta información, podríamos mencionar que la ausencia de este gen en el presente estudio puede deberse a la baja prevalencia en el entorno local.

No obstante, Calvo & López (2022), señalan que las carbapenemasas tipo OXA-48 en *Pseudomonas aeruginosa* son prevalentes en regiones como Turquía, el Norte de África y Europa y es la más común en España, particularmente en hospitales con pacientes transferidos desde estas zonas endémicas. Por lo tanto, la marcada distribución geográfica del gen explicaría la ausencia de cepas positivas en nuestro entorno.

CONCLUSIONES

1. Las 37 cepas proporcionadas por el Hospital Antonio Lorena se identificaron como *Pseudomonas aeruginosa*. El 86,5% (32/37) fueron resistentes a Imipenem y Meropenem. Así mismo las cepas presentaron resistencia a Ceftazidima/Avibactam (83,8%), Ceftazidima (81,1%), Tobramicina (78,4%), Cefepime (70,3%), Piperacilina/Tazobactam (70,3%), Ciprofloxacino (13,5%) y Levofloxacino (16,2%).
2. Mediante pruebas fenotípicas se identificaron que las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* presentan Carbapenemasas tipo A (sinergia con ácido borónico) el 18,9% y Carbapenemasas tipo B (sinergia con EDTA) el 89,2%. Para Carbapenemasas tipo D (Carba NP) el 100% resultaron negativas, siendo estas cepas productoras de Metallo- β -lactamasas.
3. Por PCR convencional las cepas *Pseudomonas aeruginosa* se logró identificar el 67,6% al gen *bla_{IMP}*. No se detectaron los genes *bla_{KPC}*, *bla_{VIM}*, *bla_{NDM}* y *bla_{OXA-48}*.

RECOMENDACIONES

1. Promover por parte de las instituciones de investigación, la ejecución de estudios de secuenciación genética en aislados de *Pseudomonas aeruginosa* con perfiles de multirresistencia, con la finalidad de identificar y caracterizar nuevos mecanismos de resistencia.
2. Desarrollar programas de vigilancia continua de los perfiles de resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a cargo de las unidades de vigilancia epidemiológica, mediante el monitoreo sistemático en los distintos centros hospitalarios de la región.
3. Se sugiere a los futuros investigadores incluir en sus estudios el análisis de otros genes de resistencia que no fueron analizados en este estudio, tales como *bla_{PER}* o *bla_{GES}*.
4. Asimismo, se recomienda la implementación de estudios de tipificación molecular en futuras investigaciones. Esto permitirá determinar la relación clonal entre cepas y analizar patrones de diseminación hospitalaria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abanto Diaz, C. E., Gonzales Cabeza, J., & Castillo Diestra, K. (2023). *Bacilo Gram negativos resistentes a Carbapenemicos productores de carbapenemasa aislados de pacientes del Hopital Belen de Trujillo*.
- Aguilar , E., Marín, M., Campo, L., Muñiz, J., & Espinoza, A. (2025). Identification of pandemic ST147, ESBL-type β -lactamases, carbapenemases, and virulence factors in *Klebsiella pneumoniae* isolated from southern Peru. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-97464-8>
- Al-Daghistani, H., Abu-Niaaj, L., & Zein, S. (2025). Accurate Diagnosis of *Pseudomonas aeruginosa* Is Critical to Mitigating Development of Antibiotic Resistance. *Antibiotics*, 14(5), 2-11. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14050509>
- Alharbi , M. S., Moursi, S. A., Alshammari, A., Aboras, R., Rakha, E., Hossain, A., Alnazha, K., & Saleem, M. (2025). Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Pathogenesis, resistance mechanisms, and novel therapeutic strategies. *Virulence*. <https://doi.org/10.1080/21505594.2025.2580160>
- Angles, E., Huaranga, J., Sacsquispe, R., & Pampa, L. (2020). Panorama de las carbapenemasas en Perú. *Revista Panamericana de Salud Pública*(44). <https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.61>
- Azam, M., & Khan, A. (2019). Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*. *Drug Discovery Today*, 24(1), 350–359. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.07.003>

- Barbosa, C., Nogueira, S., Gadanho, M., & Chaves, S. (2016). Extracción de ADN: Encontrar el método más adecuado. *Métodos de diagnóstico microbiano molecular*, 135-154. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416999-9.00007-1>
- Barth, P., Dariane, C., Morschbacher, C., Figueira, K., & Barth, A. (2025). Increased rates of blaNDM in *Pseudomonas aeruginosa* in a tertiary care hospital in southern Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 29(3), 1-3. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2025.104523>
- Bergey, D., & Holt, J. (2000). *Manual de bacteriología determinativa de Bergey* (9 ed.). New York: Springer.
- Bernaola, C., & Lujan, W. (2024). *Resistencia antimicrobiana de Pseudomonas aeruginosa en hospitales del Perú en los períodos 2008-2010 y 2017-2019 [Tesis de licenciatura]*. Lima: Repositorio Institucional de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/15042/Resistencia_BernaolaPorlles_Cristhian.pdf?sequence=3
- Boyd, S., Holmes, A., Peck, R., Livermore, D., & Hope, W. (2022). OXA-48-Like β -Lactamases: Global Epidemiology, Treatment Options, and Development Pipeline. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/aac.00216-22>
- Calvo, B., & López, M. (2022). Estado actual de la resistencia a carbapenemes: Epidemiología y aspectos microbiológicos. *Actual Medicina*, 107(816), 110-116. <https://doi.org/10.15568/am.2022.816.rev02>
- Campos, L. (2024). *Identificación Fenotípica y Molecular (PCR) de β -Lactamasas tipo BLEE y Carbapenemasas en cepas de Klebsiella pneumoniae aislados de pacientes intrahospitalarios en la Ciudad de Cusco*.

<https://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/8635/253T20240218.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Candan, D., & Aksöz, N. (2015). *Klebsiella pneumoniae*: characteristics of carbapenem resistance and virulence factors. *Acta Biochimica Polonica*, 62(4), 867–874. https://doi.org/10.18388/abp.2015_1148

Caparachin, M., & Mallqui, J. (2020). *Identificación de genes: betalactamasas de espectro extendido (TEM y SHV) y carbapenemasas (NDM y KPC), en cepas de Klebsiella pneumoniae en un hospital de nivel IV de Lima Metropolitana, Perú [Tesis de licenciatura]*. Lima: Repositorio Institucional de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/14129>

Cassiano de Oliveira Santos, I., Carlos da Conceição Neto, O., Santos da Costa, B., Basatos Tavares, C., da Siva Pontes, L., Chaves Silveira, M., Rocha de Souza, C., & D'Alincourt Carvalho-Assef, A. (2022). *Evaluación de la detección fenotípica de Pseudomonas spp. productoras de carbapenemasas a partir de aislamientos clínicos*. <https://doi.org/10.1007/s42770-022-00857-4>

Chen, L., Anderson, D., & Paterson, D. (2012). Overview of the epidemiology and the threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPC) resistance. 5(41), 133. <https://doi.org/10.2147/IDR.S26613>

CLSI. (2025). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (35 ed ed.). CLSI.

Cruz, S., & Macedo, G. (2022). *Factores asociados a la susceptibilidad antimicrobiana de Pseudomona aeruginosa, Klebsiella pneumoniae y Acinetobacter baumannii frente al uso de antibióticos de reserva en pacientes con neumonía intrahospitalaria en el EsSalud Cusco 2020-2021*. Cusco: Repositorio

Institucional de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
<http://hdl.handle.net/20.500.12918/6832>

Diz, O. (2020). Técnicas de biología molecular en el diagnóstico de enfermedades infecciosas. *NPunto*, 3(30), 88–102.

Dortet , L., Poirel, L., & Nordmann, P. (2012). *Rapid detection of carbapenemase-producing Pseudomonas spp.* <https://doi.org/10.1128/JCM.01597-12>

Elfadadny, A., Ragab, R., AlHarbi, M., Badshah, F., Ibáñez, E., Farag, A., Hendawy, A., De los Ríos, P., Aboubakr, M., Zakai, S., & Nageeb, W. (2024). Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: Navigating clinical impacts, current resistance trends, and innovations in breaking therapies. *Frontiers in Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1374466>

Elsherif, R., Ismail, D., Elawady, S., Jastaniah, S., Al-Masaudi, S., Harakeh, S., & Karrouf, G. (2016). Difusión en disco de ácido borónico para la detección fenotípica de aislamientos de bacilos gramnegativos resistentes a carbapenémicos confirmados mediante reacción en cadena de la polimerasa. <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-016-0754-z#Tab2>

Espinoza, D., & Esparza, G. (2021). Resistencia enzimática en *Pseudomonas aeruginosa*, aspectos clínicos y de laboratorio. *Revista Chilena de Infectología*, 38(1), 69-80. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182021000100069>

Gadaime, N., Haddadin, R., Shehabi, A., & Omran, I. (2024). Antimicrobial resistance and carbapenemase dissemination in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Libyan hospitals: A call for surveillance and intervention. *Libyan Journal of Medicine*, 19(1). <https://doi.org/10.1080/19932820.2024.2344320>

- Garcia , D., De la Cruz , M., Cabanillas, L., Otiniano, N., Rojas, W., Salvatierra, W., Diaz, K., & Lujan, M. (2023). Carbapenemase-Producing Bacteria Isolated from ICU Patients of a Peruvian Government Hospital during the COVID-19 Pandemic: A Descriptive Analysis. *Revista Científica Pakamuros*, 12(1).
<https://doi.org/10.37787/sqeym891>
- Giovagnorio, F., De Vito, A., Madeddu, G., Parisi, S., & Geremia, N. (2023). Resistencia en *Pseudomonas aeruginosa* : una revisión narrativa de la interpretación del antibiograma y tratamientos emergentes. *Antibiotics*, 12(11).
<https://doi.org/10.3390/antibiotics12111621>
- Grabein, B., Arhin, F., & Baillon, N. (2024). *Navegando el panorama actual del tratamiento de las infecciones por bacterias gramnegativas productoras de metalo- β -lactamasas: ¿Cuáles son las limitaciones?*
<https://doi.org/10.1007/s40121-024-01044-8>
- Gurung, S., Kafle, S., Dhungel, B., Adhikari, N., Thapa, U., Adhikari, B., Banjara, M., Rijal, K., & Ghimire, P. (2020). Detection of OXA-48 Gene in Carbapenem-Resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from Urine Samples. *Infection and Drug Resistance*(13), 2311–2321.
<https://doi.org/10.2147/IDR.S259967>
- Gutierrez Jimenez , J., Luna Cazares , L. M., Mendoza, M. I., Diaz, G., Burguete Gutierrez, J. C., & Feliciano Guzman, J. M. (2015). Organización, mantenimiento y preservación de la Colección de Cultivos Bacterianos del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH), México. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 95-102.
https://www.researchgate.net/publication/293213124_Organizacion_mantenimie

[nto y preservacion de la coleccion de cultivos bacterianos del Instituto de Ciencias Biologicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas U NICACH Mexico](#)

Halat, D., & Moubareck, C. (2022). The intriguing carbapenemases of *Pseudomonas aeruginosa*: Current status, genetic profile, and global epidemiology. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 95(4), 507–515.

Haney, J. (2022). <https://wwwn.cdc.gov/phil/Details.aspx?pid=10043>

Hong, D., Bae, I., Jang, I.-H., Hoon Jeong, S., Kyung, H., & Lee, K. (2015). Epidemiology and Characteristics of Metallo- β -Lactamase-Producing *Pseudomonas aeruginosa*. <https://doi.org/10.3947/ic.2015.47.2.81>

Hospital Antonio Lorena. (2023). *Mapa microbiológico*. Cusco: Ministerio de Salud.

Hospital Antonio Lorena del Cusco. (2024). Plan Operativo Institucional. <https://hospitalantoniolorena.gob.pe/documentos/planeamiento/POI-2024-HAL.pdf>

Ibrahim, K., Thwood, D., ELgheriani, H., Salem, M., Elgadiym, Z., Zaghdani, A., Alhudiri, I., Habib, A., Elfahem, A., Belaid, S., Ermithi, O., Almaghrabi, M., ELMaryul, A., Almadah, S., Rayes, A., El Meshri, S., El Salabi, A., & Elzagheid, A. (2024). Prevalence of multi-drug resistant bacteria in intensive care units at Tripoli University Hospital, Tripoli, Libya. *Libyan Journal of Medicine*, 19(1). <https://doi.org/10.1080/19932820.2024.2348235>

Jáuregui, P., Vásquez, G., Rodríguez, R., & Albínez, J. (2021). Factores de riesgo para infección por *pseudomonas aeruginosa* multirresistente en pacientes con neumonía asociada a ventilación mecánica de la unidad de cuidados intensivos.

- Estudio multicéntrico. *Revista del Cuerpo Médico del HNAAA*, 14(1), 13-17.
<https://doi.org/https://doi.org/10.35434/rcmhnaaa.2021.141>
- Jeong, E., & Hoon, S. (2021). Mobile Carbapenemase Genes in *Pseudomonas aeruginosa*. *Frontiers in Microbiology*, 12.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.614058>
- Kannan, M., Jobby, R., kumar Rajasekharan, S., Arya, R., & Ravichandran, V. (2025). Molecular Framework of Multidrug Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*.
<https://doi.org/10.1007/s00284-025-04610-6>
- Lirola, L., Ávila, Á., Fernández, M., Reinoso, Á., & Martínez, S. (2022). La resistencia bacteriana. Generalidades, carbapenemasas y actualidad: una revisión narrativa. *Archivos de Medicina Universitaria*, 65, 65–74.
<http://hdl.handle.net/10481/75043>
- López, A., & Ruiz, A. (2024). Panorama de la distribución mundial de los integrones clase 1 portadores de metalo- β -lactamasas. *Revista Iberoamericana del producción Académica y Gestión Educativa*, 11(21), 1-18.
<https://doi.org/https://www.pag.org.mx/index.php/PAG/article/download/915/1385/>
- López, S., Aguilar, X., Calderón, V., Videira, T., Ávila, J., & Mejía, J. (2004). Manual de Procedimientos de Bacteriología Médica.
- MacFaddin, J. F. (2003). *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. Medica Panamericana.
- Martínez, M., Fernández, D., Hernández, M., Colín, C., García, M., Becerra, N., Franco, R., & López, L. (2023). Acquired blaVIM and blaGES Carbapenemase-Encoding

- Genes in *Pseudomonas aeruginosa*: A Seven-Year Survey Highlighting an Increasing Epidemiological Threat. *Pathogenes*, 12(10). <https://doi.org/10.3390/pathogens12101256>
- Matsumura, Y., Peirano, G., Devinney, R., Bradford, P., Motyl, M., Adams, M., Chen, L., Kreiswirth, B., & Pitout, J. (2017). Genomic epidemiology of global VIM-producing Enterobacteriaceae. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx148>
- Mayta Barrios, M., Ramirez Ilescas, J., Pacori, J., Acosta, J., Pampa, L., Silva, J., Nuñez Llanos, A., Bendezu, C., Serrano, K., & Yagui Moscoso, M. (2025). *Detección molecular de carbapenemasas en microorganismos críticos desde el inicio de la pandemia de COVID-19 en Perú*. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlaf203>
- Mayta, M., Ramirez, J., Pampa, L., & Yagui, M. (2021). Caracterización molecular de carbapenemasas en el Perú durante el 2019. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 38(1), 113–118. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.381.5882>
- Melgarejo, N., Brítez, C., Busignan, S., Falcón, M., López, E., Laconich, M., Blasco, R., Arguello, R., Kawabata, A., Olmedo, M., Rojas, C., González, M., Salinas, J., Abreu, K., Pereira, J., Mereles, E., & Martínez, M. (2021). Caracterización molecular de carbapenemasas en bacilos gramnegativos circulantes en hospitales de Paraguay. Primer cuatrimestre 2021. *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*, 19(2), 49–58. <https://doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2021.019.02.49>
- Migula, W. (1894). Migula W. Sobre un nuevo sistema bacteriano. *Trabajos del Instituto Bacteriológico de la Universidad Técnica de Karlsruhe*. 235-238.

- Miranda, S., Araya, P., Hornazabal, J., Ramirez, V., Pidal, P., Silva, F., & Valdivieso, F. (2018). *Recomendaciones para detección de carbapenemasas en enterobacterias y Pseudomonas aeruginosa*. Chile: Instituto de Salud Pública de Chile.
- Moradali, M., Ghods, S., & Rehm, B. (2017). *Pseudomonas aeruginosa Lifestyle: A Paradigm for Adaptation, Survival, and Persistence*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00039>
- Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández, F., & Mirelis, B. (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 29(7), 524–534. <https://doi.org/https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-S0213005X11001546>
- Nordmann, P., Poirel, L., & Dortet, L. (2012). Rapid Detection of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. <https://doi.org/10.3201/eid1809.120355>
- Olmos, A., Garcia de la Fuente, C., Saez, J., & Valdezate, S. (2010). Metodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. <https://seimc.org/wp-content/uploads/2025/06/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>
- Organización Panamericana de la Salud. (2020). Panorama de las carbapenemasas en Perú. *Revista Panamericana de Salud Pública*(44). <https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.61>
- Pasteran, V., Faccone, D., Guerriero, R., & Mendez. (2011). A simple test for the detection of KPC and metallo- β -lactamase carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates with the use of meropenem disks supplemented with aminophenylboronic acid, dipicolinic acid and cloxacillin. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03585.x>.

- Perozo Mena, A., Castellano González, M., Tutaya Chavez, K., Ling Toledo, E., & Arraiz, N. (2013). Evaluación de métodos fenotípicos para la detección de metalobetalactamasas de aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*. <https://www.redalyc.org/pdf/3730/373061993007.pdf>
- Phan, S., He feng, C., Huang, R., Lee, Z., Moua, Y., J Phung, O., & Lenhard, J. (2023). *Relative Abundance and Detection of Pseudomonas aeruginosa from Chronic Wound Infections Globally*. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11051210>
- Pitout, J., Peirano, G., Kock, M., Strydom, M., & Matsumura, Y. (2019). The Global Ascendancy of OXA-48-Type Carbapenemases. <https://doi.org/10.1128/cmr.00102-19>
- Qin, S., Xiao, W., Zhou, C., Pu, Q., Deng, X., Lan, L., Liang, H., Song, X., & Wu, M. (2022). *Pseudomonas aeruginosa: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. Signal Transduction and Targeted Therapy*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41392-022-01056-1>
- Remolina, S., Conde, C., Escobar, J., Leal, A., Bravo, J., Saavedra, S., De la Rosa, Z., Sánchez, N., Santana, A., Cortés, S., Acosta, E., Quintero, L., López, M., & Saavedra, C. (2021). Tipos de carbapenemasas expresadas en *Klebsiella* spp. y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos en seis hospitales de alta complejidad de la Ciudad de Bogotá - Colombia. *Revista Chilena de Infectología*, 38(5), 720-723. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182021000500720>
- Requena, D., Vásquez, Y., Gil, A., Cedeño, J., Chabin, M., Delgado, E., Díaz, D., & Dos Santos, J. (2021). Detección fenotípica y genotípica de la producción de

carbapenemasas tipo NDM-1 y KPC en enterobacterias aisladas en un laboratorio clínico en Maracay, Venezuela. *Laboratorio e Infectología orci* , 38(2), 197-203.

[https://doi.org/https://www.scielo.cl/pdf/rci/v38n2/0716-1018-rci-38-02-](https://doi.org/https://www.scielo.cl/pdf/rci/v38n2/0716-1018-rci-38-02-0197.pdf)

[0197.pdf](https://doi.org/https://www.scielo.cl/pdf/rci/v38n2/0716-1018-rci-38-02-0197.pdf)

Resurrección, C., Montenegro, J., Chiappe, A., Vargas, R., Cucho, C., Mamani, D., & Huaroto, L. (2017). Klebsiella pneumoniae nueva Delhi metalo-betalactamasa en el Hospital Nacional Dos de Mayo. Lima, Perú. *Rev. perú. med. exp. salud publica*, 34(2), 261-7.

<https://doi.org/http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v34n2/a15v34n2.pdf>

Rivera, M., Ramos, A., Rivera, C., López, J., Fernández, N., Redruello, P., Martín, L., Martínez, V., Moreno, E., & Jiménez, E. (2021). Enterobacterias productoras de carbapenemasa OXA-48 en hospitales españoles: una revisión exhaustiva y actualizada sobre la creciente resistencia a los antimicrobianos. *Antibióticos*, 10(1). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010089>

Rodríguez, A., & Burgos, A. (2024). Mecanismos de resistencia de la Pseudomonas aeruginosa. *Revista Peruana de Ciencias de la Salud*, 6(1), 55–62.

<https://doi.org/10.37711/rpcs.2024.6.1.445>

Rudra, B., Duncan, L., Shah, A., Shah, H., & Gupta, R. (2022). Phylogenomic and comparative genomic studies robustly demarcate two distinct clades of Pseudomonas aeruginosa strains: proposal to transfer the strains from an outlier clade to a novel species Pseudomonas paraeruginosa sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 72(11).

Rudresh, S. M., Ravi, G., Sunitha, L., Hajira, S., Kalaiarasan , E., & Harish, B. (2017). Simple, rapid, and cost-effective modified Carba NP test for carbapenemase

- detection among Gram-negative bacteria. *Journal of Laboratory Physicians*, 9(4), 303-307. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005542>
- Sacsaquispe, R., & Bailón, H. (2018). Identificación de genes de resistencia a carbapenémicos en enterobacterias de hospitales de Perú, 2013-2017. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 259–264. <https://doi.org/https://doi.org/10.17843/rpmesp.25Y.25v25i.3474>
- Sacsaquispe, R., & Ventura, G. (2005). *Manual de procedimientos bacteriológicos en infecciones intrahospitalarias*. https://bvs.ins.gob.pe/insprint/salud_publica/nor_tec/28.pdf
- Salcedo Guevara, J. (2025). Consumo de antimicrobianos en los establecimientos de salud de la Gerencia Regional de Salud de Cusco, Perú (2017 – 2024). *REVISTA CIENCIA, POLÍTICA Y REGULACIÓN FARMACÉUTICA*, 18-24. <https://doi.org/10.64750/rcprf.2025.2.3.25>
- Salvador, G., Cruz, L., Calla, H., Rivera, D., Solís, L., & García de la Guarda, R. (2025). Diversidad clonal de *Pseudomonas aeruginosa* productoras de carbapenemasas aisladas de muestras clínicas en un hospital de tercer nivel de Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 42(1), 76-81. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2025.421.13818>
- Salvador, G., Garcia de la Guarda, R., & Gonzalez, E. (2018). *Caracterización de metalo- β -lactamasas en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* recuperados de pacientes hospitalizados en el Hospital Militar Central*. <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/3755/3187>
- Salvador, G., Ramírez, J., Delgado, M., Núñez, A., & Mayta, M. (2021). Primer reporte de carbapenemasa tipo KPC en *Pseudomonas aeruginosa* en un hospital del Perú.

Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública, 38(3), 474–475.

<https://doi.org/https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.383.7044>

Shack, T. M. (2020). El tamaño de una banda de electroforesis. Guatemala.

<https://www.youtube.com/watch?v=QUbcOlhWED0&t=209s>

Sharma, S., Devkota, M., Pokhrel, B., & Banjara, M. (2023). Detección de bla NDM-1, mcr-1 y MexB en *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente aislada de muestras clínicas en un hospital de atención terciaria de Nepal.

<https://doi.org/10.1186/s12866-023-02906-w>

Tang, Y., Ali, Z., Zou, J., Jin, G., Zhu, J., Yang, J., & Dai, J. (2017). Detection methods for *Pseudomonas aeruginosa*: history and future perspective. *RSC Advances*(7), 51789-51800. <https://doi.org/10.1039/C7RA09064A>

Tickler, I., Gomez, J., Alvarado, L., Obradovich, A., & Tenover, F. (2022). Mechanisms of carbapenemase-mediated resistance among high-risk *Pseudomonas aeruginosa* lineages in Peru. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*(31), 135–140.

<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2022.08.018>

Timothy, W., Toleman, M., Poirel, L., & Nordmann, P. (2005). Metallo- β -lactamasas: ¿la tranquilidad antes de la tormenta? *Clinical Microbiology Reviews*, 18(2), 306–325.

<https://doi.org/https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1082798/pdf/0040-04.pdf>

Ting, T., Zhang, J., Wang, J., Tao, J., Song Yu, Y., Chen, Y., Jian, Y., & Lan, J. (2009). *Evaluation of Phenotypic Tests for Detection of Metallo- β -Lactamase-Producing Pseudomonas aeruginosa Strains in China.*

<https://doi.org/https://doi.org/10.1128/JCM.01592-08>

- Tomás da Costa, J., Lima, C., Vera, A., San Martin, I., Bello, H., Domínguez, M., Opazo, A., Mella, S., Quezada, M., & González, G. (2021). Carbapenemasas en aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos aisladas en hospitales de Chile. *Revista Chilena de Infectología*, 38(1), 81–87. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182021000100081>
- Tsakris, A., Kristo, L., Polou, A., Digalaki, K., Konomidis, A., Petropoulou, D., Pournaras, S., & Sofianou, D. (2008). Evaluation of Boronic Acid Disk Tests for Differentiating KPC-Possessing *Klebsiella pneumoniae* Isolates in the Clinical Laboratory. <https://doi.org/10.1128/JCM.01922-08>
- Vamsi, S., Moorthy, R., Hemilamma, M., Reddy, R., Chanderakant, D., & Sirikonda, S. (2022). Phenotypic and genotypic detection of carbapenemase production among gram negative bacteria isolated from hospital acquired infections. *Saudi Medical Journal*, 43(3), 236-243. <https://doi.org/10.15537/smj.2022.43.3.20210809>
- Varshini, D., Priya, A., Laithambigai, J., Rajalakshmi, C., & Saraswathi, R. (2023). Comparison of double-disc synergy, combined disc diffusion, and E test for metallo-beta-lactamase detection in *Pseudomonas aeruginosa* in a tertiary care hospital. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 16(8). <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2023.v16i8.47652>
- Verdial, C., Serrano, I., Tavares, L., Gil, S., & Oliveira, M. (2023). Mechanisms of Antibiotic and Biocide Resistance That Contribute to *Pseudomonas aeruginosa* Persistence in the Hospital Environment. *biomedicines*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/biomedicines11041221>

- Vignoli, R. (2018). Mecanismo de resistencia a los antibioticos. <https://cdn1.redemc.net/campus/wp-content/uploads/2018/03/ATB-01-VignoliGales-Manual-Resistencia-ES-PUB.pdf>
- Vila, J., & Marco, f. (2010). Lectura interpretada del antibiograma de bacilos gramnegativos no fermentadores. *ELSEVIER*. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2010.05.001>
- Viñes, J., Lopera, C., Vergara, A., Roca, I., Vila, J., Casals, C., Martinez, J., Garcia, C., Soriano, A., & Pitart, C. (2024). *Aparición de Pseudomonas aeruginosa ST179 resistente a carbapenémicos productora de IMP-16 y KPC-2: un estudio de caso de introducción desde Perú a España*. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00614-24>
- Walsh, T. (2010). Emerging carbapenemases: a global perspective. [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(10\)70004-2](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(10)70004-2)
- World Health Organization. (2024). *WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance*. Geneva: Organización Mundial de la Salud.
- Wu, W., Feng, Y., Tang, G., Qiao, F., McNally, A., & Zong, Z. (30 de 01 de 2019). *Metallo- β -lactamasas NDM y sus bacterias productoras en entornos sanitarios*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/CMR.00115-18>
- Wu, W., Jin, Y., Bai, F., & Jin, S. (2015). *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular Medical Microbiology*, 2, 753–766. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00041-X>

Yábar Varas, C. A. (2003). *Manual de procedimientos de electroforesis para proteina y ADN*. Lima: Ministerio de Salud.

ANEXOS

Anexo 1: Casuística de las 37 cepas de *Pseudomonas aeruginosa*

Nº	Código Hospitalario	Código de Estudio	Sexo	Edad	Procedencia	Tipo de Muestra	Prueba de APB-Tipo A	Prueba con EDTA-Tipo B	Carba NP-Tipo D	PCR				
										<i>bla</i> _{IMP}	<i>bla</i> _{NDM}	<i>bla</i> _{VIM}	<i>bla</i> _{KPC}	<i>bla</i> _{oxa-48}
1	1686-SEC	PaeHAL01	M	43	UCI	Aspirado Traqueal	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
2	1864-SEC	PaeHAL02	M	54	Traumatología	Herida De Tibia Distal	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
3	325-SEC	PaeHAL03	M	33	Medicina Varones	Secreción De Herida	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
4	2 - SEC	PaeHAL 04	M	56	Traumashock	Aspirado Traqueal	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5	1855 - SEC	PaeHAL 05	M	38	UCI	Aspirado Traqueal	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	324 - SEC	PaeHAL 06	M	18	UCIN	Aspirado Traqueal	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
7	1827 - SEC	PaeHAL 07	M	53	Infectología	Espuito	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
8	1706 - SEC	PaeHAL 08	F	32	Emergencia	Secreción Traqueal	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
9	1784 - SEC	PaeHAL 09	M	45	UCIN	Aspirado Traqueal	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
10	1565 - SEC	PaeHAL 10	M	67	Neumología	Espuito	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
11	275 - SEC	PaeHAL 11	F	43	Medicina Mujeres	Secreción Pared Abdominal	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
12	30 - SEC	PaeHAL 12	M	61	Traumatología	Aspirado Bronquial	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
13	1438 - SEC	PaeHAL 13	M	9	Pediatría	Secreción Bronquial	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
14	1541 - SEC	PaeHAL 14	M	53	Neurocirugía	Secreción Traqueal	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
15	1563 - SEC	PaeHAL 15	F	58	UCI	Aspirado Traqueal	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
16	270 - SEC	PaeHAL 16	M	52	Emergencia	Espuito	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
17	1768 - SEC	PaeHAL 17	M	51	UCI	Lavado broncoalveolar	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
18	1510 - SEC	PaeHAL 18	F	68	UCI	Secreción Traqueal	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
19	1485 - SEC	PaeHAL 19	F	65	UCI	Secreción Traqueal	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
20	1437 - SEC	PaeHAL 20	M	37	Emergencia	Espuito	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
21	1518 - SEC	PaeHAL 21	M	40	Medicina Varones	Secreción Bronquial	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

N°	Código Hospitalario	Código de Estudio	Sexo	Edad	Procedencia	Tipo de Muestra	Prueba de APB-Tipo A	Prueba con EDTA-Tipo B	Carba NP-Tipo D	<i>bla</i> _{IMP}	<i>bla</i> _{NDM}	PCR		
												<i>bla</i> _{VIM}	<i>bla</i> _{KPC}	<i>bla</i> _{oxa-48}
22	1513 - SEC	PaeHAL 22	M	78	Emergencia	Aspirado Bronquial	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
23	3686 - URO	PaeHAL 23	F	53	UCIN	Orina	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
24	51 - SEC	PaeHAL 24	M	47	UCI	Aspirado Traqueal	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
25	21 - SEC	PaeHAL 25	M	22	Emergencia	Secreción Endotraqueal	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
26	1229 - SEC	PaeHAL 26	M	59	UCI	Secreción Bronquial	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
27	1297 - SEC	PaeHAL 27	M	62	Cirugia Varones	Secreción De Ileostomia	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
28	1380 - SEC	PaeHAL 28	M	72	UCI	Aspirado Traqueal	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
29	1381 - SEC	PaeHAL 29	F	76	UCIN	Liquido Peritoneal	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
30	1227 - SEC	PaeHAL 30	F	29	UCI	Secreción Intraabdominal	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
31	1313 - SEC	PaeHAL 31	F	30	UCI	Liquido Peritoneal	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
32	1391 - SEC	PaeHAL 32	F	57	Cirugia Mujeres	Secreción Abdominal	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
33	2733 - URO	PaeHAL 33	F	51	Cirugia Mujeres	Orina	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
34	2670 - URO	PaeHAL34	F	50	Cirugia Mujeres	Orina	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
35	1540 - SEC	PaeHAL35	F	24	UCIN	Secreción Traqueal	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
36	1379-SEC	PaeHAL36	M	72	UCI	Aspirado Traqueobronquial	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
37	1374 - SEC	PaeHAL37	M	40	Medicina Varones	Espuito	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

NOTA. (+): POSITIVO, (-): NEGATIVO

Anexo 2: Características morfológicas de la *Pseudomonas aeruginosa*

N°	CODIGO	COLOR	BORDE	FORMA	ELEVACIÓN	SUPERFICIE	CONSISTENCIA
1	PaeHAL01	Crema	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
2	PaeHAL02	Verde amarillento	Entero	Circular	Plana	Lisa	Cremosa
3	PaeHAL03	Verde amarillento	Entero	Ovalada	Plana	Lisa	Cremosa
4	PaeHAL 04	Verde amarillento	Entero	Ovalada	Plana	Lisa	Cremosa
5	PaeHAL 05	Verde amarillento	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
6	PaeHAL 06	Verde amarillento	Entero	Ovalada	Plana	Lisa	Cremosa
7	PaeHAL 07	Verde amarillento	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
8	PaeHAL 08	Verde amarillento	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
9	PaeHAL 09	Crema	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
10	PaeHAL 10	Verde	Entero	Ovalada	Plana	Lisa	Cremosa
11	PaeHAL 11	Verde amarillento	Entero	Ovalada	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
12	PaeHAL 12	Verde amarillento	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
13	PaeHAL 13	Verde amarillento	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
14	PaeHAL 14	Verde amarillento	Entero	Ovalada	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
15	PaeHAL 15	Verde amarillento	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
16	PaeHAL 16	Verde amarillento	Entero	Ovalada	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
17	PaeHAL 17	Verde amarillento	Entero	Circular	Plana	Lisa	Cremosa
18	PaeHAL 18	Verde amarillento	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
19	PaeHAL 19	Verde amarillento	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
20	PaeHAL 20	Verde amarillento	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
21	PaeHAL 21	Verde amarillento	Entero	Circular	Plana	Lisa	Cremosa
22	PaeHAL 22	Verde amarillento	Entero	Ovalada	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
23	PaeHAL 23	Verde amarillento	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
24	PaeHAL 24	Verde amarillento	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
25	PaeHAL 25	Verde amarillento	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
26	PaeHAL 26	Verde amarillento	Ondulado	Irregular	Plana	Lisa	Cremosa
27	PaeHAL 27	Verde amarillento	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
28	PaeHAL 28	Crema	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
29	PaeHAL 29	Verde amarillento	Entero	Circular	Plana	Lisa	Cremosa
30	PaeHAL 30	Verde amarillento	Entero	Ovalado	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
31	PaeHAL 31	Verde amarillento	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
32	PaeHAL 32	Verde	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
33	PaeHAL 33	Verde	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
34	PaeHAL34	Verde	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
35	PaeHAL35	Verde amarillento	Entero	Circular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa
36	PaeHAL36	Verde amarillento	Entero	Ovalada	Plana	Lisa	Cremosa
37	PaeHAL37	Verde amarillento	Ondulado	Irregular	Ligeramente elevada	Lisa	Cremosa

Anexo 3: Diferenciación bioquímica

Nº	Código	TSI	LIA	M	I	O	Citrato	Urea	Oxidasa	Fluorescencia	Crecimiento a 42°C	Fermentación de Lactosa	Identificación microbiológica
1	PaeHAL01	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
2	PaeHAL02	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
3	PaeHAL03	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
4	PaeHAL 04	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
5	PaeHAL 05	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
6	PaeHAL 06	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
7	PaeHAL 07	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
8	PaeHAL 08	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
9	PaeHAL 09	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
10	PaeHAL 10	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
11	PaeHAL 11	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
12	PaeHAL 12	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
13	PaeHAL 13	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
14	PaeHAL 14	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
15	PaeHAL 15	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
16	PaeHAL 16	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
17	PaeHAL 17	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
18	PaeHAL 18	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
19	PaeHAL 19	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
20	PaeHAL 20	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
21	PaeHAL 21	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
22	PaeHAL 22	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
23	PaeHAL 23	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
24	PaeHAL 24	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
25	PaeHAL 25	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
26	PaeHAL 26	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
27	PaeHAL 27	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
28	PaeHAL 28	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
29	PaeHAL 29	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
30	PaeHAL 30	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
31	PaeHAL 31	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
32	PaeHAL 32	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
33	PaeHAL 33	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
34	PaeHAL34	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
35	PaeHAL35	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
36	PaeHAL36	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
37	PaeHAL37	K/K	K/K	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Nota. (+): POSITIVO, (-): NEGATIVO, K: ALCALINO

Anexo 4: Antibiógrama de cepas *Pseudomonas aeruginosa*

Nº	Código	ATM	FEP	MEM	IPM	CIP	CZA	CAZ	TZP	LEV	TOB	AMK
1	PaeHAL01	S	R	R	R	S	R	R	R	S	R	
2	PaeHAL02	I	R	R	R	S	R	R	R	S	R	
3	PaeHAL03	I	S	S	I	S	R	I	S	I	S	
4	PaeHAL 04	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	
5	PaeHAL 05	S	R	R	R	S	R	R	R	S	R	
6	PaeHAL 06	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	
7	PaeHAL 07	S	R	R	R	S	R	R	R	S	R	
8	PaeHAL 08	S	R	R	R	S	R	R	R	S	R	
9	PaeHAL 09	R	R	R	R	S	R	R	R	I	R	
10	PaeHAL 10	S	S	S	I	S	S	R	S	S	I	
11	PaeHAL 11	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	
12	PaeHAL 12	I	S	R	R	S	R	R	S	S	S	
13	PaeHAL 13	I	R	R	R	S	R	R	R	S	R	
14	PaeHAL 14	I	S	R	S	R	S	R	S	R	S	
15	PaeHAL 15	S	R	R	R	S	R	R	R	S	R	
16	PaeHAL 16	I	R	R	R	S	R	R	R	S	R	
17	PaeHAL 17	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	
18	PaeHAL 18	I	R	R	R	S	R	R	R	S	R	
19	PaeHAL 19	S	R	R	R	S	R	R	R	S	R	
20	PaeHAL 20	S	R	R	R	S	R	R	R	S	R	
21	PaeHAL 21	I	S	R	S	S	R	S	S	I	R	
22	PaeHAL 22	I	R	R	R	S	R	R	R	S	R	
23	PaeHAL 23	I	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R

Nº	Código	ATM	FEP	MEM	IPM	CIP	CZA	CAZ	PIT	LEV	TOB	AMK
24	PaeHAL 24	I	R	R	R	S	R	R	R	S	R	
25	PaeHAL 25	I	R	R	R	S	R	R	R	S	R	
26	PaeHAL 26	S	R	R	R	S	R	S	S	S	R	
27	PaeHAL 27	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	
28	PaeHAL 28	R	S	R	R	S	R	R	R	I	S	
29	PaeHAL 29	R	R	R	R	S	R	R	R	I	R	
30	PaeHAL 30	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	
31	PaeHAL 31	R	R	R	R	S	R	R	I	R	R	
32	PaeHAL 32	S	S	I	R	S	S	S	S	S	S	
33	PaeHAL 33	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
34	PaeHAL34	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
35	PaeHAL35	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	
36	PaeHAL36	I	R	R	R	S	R	R	R	S	R	
37	PaeHAL37	S	S	I	S	S	S	S	S	S	R	

ATM: Aztreonam; FEP: Cefepime; MEM: Meropenem; CIP: Ciprofloxacino; CZA: Ceftazidima/Avibactam; IPM: Imipenem; CAZ: Ceftazidima; TZP: Piperacilina/Tazobactam; LEV: levofloxacino; TOB: Tobramicina; AMK: Amikacina.

Anexo 5: Aprobación Bioética del Proyecto por el CBI-UNSAAC



Comité de Bioética Institucional y Sub Comités de Bioética de la UNSAAC

Código: CBI-UNSAAC2025-004

INFORME FINAL DE ASPECTOS BIOÉTICOS DEL PROYECTO

Datos del Investigador que solicita la opinión del CBI-UNSAAC

Nombre: Bach. BORDA-CASTILLA-WENDY LEIDY.

Facultad: Ciencias Biológicas

Universidad: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

Correo electrónico: 110297@unsaac.edu.pe

Teléfono: 984377839

Datos del Proyecto de investigación

Título: "Identificación fenotípica y por PCR de carbapenemasas tipo A, B Y D en cepas de Pseudomonas aeruginosa proporcionadas por el Hospital Antonio Lorena de Cusco, 2025"

Fecha de ingreso: 05-03-2025

Fecha de emisión de informe final: 27-03-2025

Resultado de la evaluación a aspectos bioéticos y metodológicos: APROBADO.

Observaciones: El proyecto presentado a consideración del Comité de Bioética Institucional en Investigación de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (CBI-UNSAAC), ha sido evaluado por el CBI-UNSAAC y el Subcomité de bioética en ensayos clínicos, estudios clínicos epidemiológicos en seres humanos, quienes solicitaron los protocolos de bioseguridad de los laboratorios, que fueron presentados en el plazo establecido por el responsable del trabajo de investigación.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABADEL CUSCO
COMITÉ DE BIOÉTICA
Tatiana Del Castillo de Loayza
DRA. TATIANA DEL CASTILLO DE LOAYZA
PRESIDENTE

Atentamente,

Mg. Tatiana Del Castillo de Loayza.
Presidente del Comité de Bioética Institucional de la UNSAAC
comite.bioetica@unsaac.edu.pe

Anexo 6: Autorización del Hospital Antonio Lorena

	GOBIERNO REGIONAL DEL CUSCO	GERENCIA REGIONAL DE SALUD	HOSPITAL ANTONIO LORENA	OFICINA DE INVESTIGACIÓN, DOCENCIA Y CAPACITACIÓN	
---	-----------------------------------	----------------------------------	-------------------------------	--	---

AÑO DE LA RECUPERACIÓN Y CONSOLIDACIÓN DE LA ECONOMÍA PERUANA

AUTORIZACIÓN

El que suscribe Dra. YANNET HUACAC GUZMAN Jefe de la Oficina de Investigación, Docencia y Capacitación del Hospital Antonio Lorena del Cusco.

AUTORIZA:

Al estudiante, **BORDA CASTILLA WENDY LEIDY** de la Facultad de Ciencias Biológicas de la **Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco**, realizar su Proyecto de Tesis Titulado: **"IDENTIFICACIÓN FENOTÍPICA Y POR PCR DE CARBAPENEMASAS TIPO A,B Y D EN CEPAS DE pseudomonas aeruginosa PROPORCIONADAS POR EL HOSPITAL ANTONIO LORENA DEL CUSCO ,2025 "**

Presentado a nuestra institución y previamente revisado por el Comité de Ética en Investigación autorizando la ejecución del proyecto de tesis mencionado

Se expide la presente a petición del interesado para los fines respectivos. Carece de valor en asuntos judiciales.

Cusco, 16 de Enero del 2025



GOBIERNO REGIONAL CUSCO
GERENCIA REGIONAL DE SALUD
HOSPITAL ANTONIO LORENA

.....
MC. Yannet Huacac Guzman
CIRUGIA GENERAL LAPAROSCOPICA
CNP 17453 RNP 34018
JEFE CAPACITACIÓN- INVESTIGACIÓN Y DOCENCIA

Anexo 7: Protocolo de preparación de las soluciones de la Prueba Carba NP

Preparación de Soluciones

- **Solución A (Solución de trabajo):** Se prepara añadiendo rojo de fenol (0.05%) y $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.1 mmol/L). El pH debe ajustarse a 7.8 ± 0.1 . Esta solución se almacena a 4°C en frascos ámbar.
- **Solución B (Solución con antibiótico):** Se prepara de forma extemporánea (fresca) añadiendo 12 mg/mL de imipenem-cilastatina (forma inyectable) a la Solución A. Esta concentración compensa el componente de cilastatina, equivalente a 6 mg/mL de imipenem puro. Mantener a 4°C hasta su uso.
- **Solución C (Buffer de lisis):** Preparación interna compuesta por Tris-HCl 20 mmol/L y Triton X-100 al 0.1%.

Fuente: Rudresh et al. 2017