



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

EVALUACIÓN DEL MÉTODO RÁPIDO MODIFICADO PARA LA DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS EN HEMOCULTIVOS

**Línea de investigación:
Microbiología y parasitología**

Tesis para optar el Título de segunda especialidad en Microbiología

Autora

Bellido Huashuayo, Esther Rosaura

Asesor

Rojas León, Roberto Eugenio

ORCID: 0000-0002-5803-9659

Jurado

Prado Maggia, Carlos Toribio

Suarez Obregón, Evert Segundo

Calderón Cumpa, Luis Yuri

Lima - Perú

2025

RECONOCIMIENTO - NO COMERCIAL - SIN OBRA DERIVADA
(CC BY-NC-ND)



"EVALUACIÓN DEL MÉTODO RÁPIDO MODIFICADO PARA LA DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS EN HEMOCULTIVOS"

INFORME DE ORIGINALIDAD

16%

INDICE DE SIMILITUD

5%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

15%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Peruana Cayetano Heredia Trabajo del estudiante	14%
2	repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet	<1%
3	repositorio.unfv.edu.pe:8080 Fuente de Internet	<1%
4	Submitted to Universidad de San Buenaventura Trabajo del estudiante	<1%
5	idoc.pub Fuente de Internet	<1%
6	www.britanialab.com Fuente de Internet	<1%
7	ricerca.univaq.it Fuente de Internet	<1%
8	www.ecoportal.net Fuente de Internet	<1%



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

EVALUACIÓN DEL MÉTODO RÁPIDO MODIFICADO PARA LA DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS EN HEMOCULTIVOS

Línea de investigación: Microbiología y Parasitología

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN MICROBIOLOGÍA

Autor:

Bellido Huashuayo, Esther Rosaura

Asesor:

Rojas León, Roberto Eugenio

Código Orcid: 0000-0002-5803-9659

Jurado

Prado Maggia, Carlos Toribio

Suarez Obregón, Evert Segundo

Calderón Cumpa, Luis Yuri

Lima-Perú

2025

DEDICATORIA

A mi familia, por estar siempre junto a mí, apoyándome en las decisiones que tomo, y cada reto que emprendo.

A Jesús, Alejandra y Fernanda, en especial por su paciencia, a mis padres por creer siempre en mí.

ÍNDICE

Dedicatoria

Índice

Resumen

Abstract

I.	Introducción	1
	1.1. Descripción y formulación del problema	2
	1.2. Antecedentes.....	3
	1.3. Objetivos.....	6
	- Objetivo general.....	6
	- Objetivos específicos.....	6
	1.4. Justificación	7
II.	Marco teórico.....	9
	2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación	9
III.	Método.....	16
	3.1. Tipo de investigación	16
	3.2. Ámbito temporal y espacial.....	16
	3.3. Variables.....	16
	3.4. Población y muestra	17
	3.5. Instrumentos.....	18
	3.6. Procedimientos.....	18
	3.7. Análisis de datos.....	19
	3.8. Consideraciones éticas.....	19
IV.	Resultados.....	20
V.	Discusión.....	26
VI.	Conclusiones.....	27
VII.	Recomendaciones	28
VIII.	Referencias	29
IX.	Anexos.....	33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Operacionalización de variables.....	16
Tabla 2 . Cepas utilizadas en el estudio (n=75).....	20
Tabla 3. Resultados de las los métodos convencionales, prueba rápida y PCR.....	21
Tabla 4. Determinación del índice kappa.....	24

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de las cepas que participaron en este estudio.....	21
Figura 2. Comparación de métodos para la detección de tipo de carbapenemasa.....	24

RESUMEN

Se prevé que en pocos años la resistencia a los antibióticos se convierta en la segunda causa de mortalidad a nivel mundial. Perú conoce esta realidad, y el laboratorio clínico juega un papel crucial en la detección temprana del perfil de resistencia de los hemocultivos para un tratamiento rápido y exitoso. Actualmente se dispone de ensayos rápidos para la identificación de carbapenemasas en quince minutos. Nuestro objetivo es utilizar metodologías que proporcionen resultados fiables. Esta investigación es descriptiva, retrospectiva y correlacional; cuyo objetivo principal fue evaluar la prueba rápida modificada, determinando la concordancia general del método rápido modificado frente al método convencional para evaluar los perfiles de resistencia tipo carbapenemasa (NDM, KPC, OXA, VIM e IMP) , comparación de la sensibilidad y la especificidad con la biología molecular (GeneXpert) en muestras de pacientes con cáncer. Se utilizaron 75 muestras, lo que arrojó un resultado de concordancia de 0,94 para el enfoque rápido modificado. El enfoque rápido modificado presenta una concordancia excelente ($\kappa 0,8 < k \leq 1$), con unos valores de sensibilidad y especificidad diagnósticas del 95,6% y el 100%, respectivamente. El enfoque rápido es eficaz para detectar la resistencia a los perfiles de carbapenemasas más prevalentes, con lo que se ahorra un tiempo importante en comparación con los métodos más antiguos.

Palabras clave: prueba rápida, hemocultivos, carbapenemasas

ABSTRACT

Antibiotic resistance is expected to become the second leading cause of mortality worldwide within a few years. Peru is aware of this reality, and the clinical laboratory plays a crucial role in the early detection of the resistance profile of blood cultures for rapid and successful treatment. Rapid assays are currently available for the identification of carbapenemases in fifteen minutes. Our aim is to use methodologies that provide reliable results. This research is descriptive, retrospective and correlational; whose main objective was to evaluate the modified rapid test, determining the overall concordance of the modified rapid method versus the conventional method for assessing carbapenemase-type resistance profiles (NDM, KPC, OXA, VIM and IMP), comparing sensitivity and specificity with molecular biology (GeneXpert) in samples from cancer patients. Seventy-five samples were used, resulting in a concordance score of 0.94 for the modified rapid approach. The modified rapid approach has excellent concordance ($kappa\ 0.8 < k \leq 1$), with diagnostic sensitivity and specificity values of 95.6% and 100%, respectively. The rapid approach is effective in detecting resistance to the most prevalent carbapenemase profiles, saving significant time compared to older methods.

Key Words: rapid test, blood cultures, carbapenemases

I. INTRODUCCIÓN

Escribir acerca de la resistencia bacteriana no es nuevo, siempre ha sido un tema preocupante ya que se caracteriza por la capacidad adquirida o natural de que una cepa bacteriana no se vea afectada por bactericidas o bacteriostáticos. Actualmente no hay control sobre el uso indiscriminado de antibióticos, lo que ha generado una respuesta de parte de los microorganismos, lo que se evidencia en una respuesta por parte de estos, que se traduce en la capacidad de evasión a la acción bactericida de los antibióticos (Daza, 1998). La Organización Mundial de la Salud, declaró que durante la pandemia de COVID-19 se notificó la presencia de bacterias catalogadas como extremadamente resistentes, también se registró la aparición de resistencia a carbapenémicos e incluso combinaciones de tipos de resistencia en Latinoamérica y el Caribe. La asociación entre la forma de como fueron tratados los pacientes con COVID-19 recibiendo cefalosporinas de tercera generación podría haber aumentado también su resistencia y aumento de registros a carbapenemasas (OMS, 2021).

Existe una considerable probabilidad de que se produzcan errores en el tratamiento empírico debido al creciente número de enfermedades graves causadas por bacterias resistentes a los antibióticos, lo que está impulsando la demanda de procedimientos de diagnóstico rápido (Vila et al., 2017). El laboratorio desempeña un papel vital en la rápida detección de resistencias, facilitando el diagnóstico y el tratamiento precoces, lo que contribuye significativamente a la recuperación del paciente y reduce la morbilidad y la mortalidad. Por ejemplo, en casos de sepsis, la identificación preliminar de un bacilo gramnegativo en un hemocultivo se considera fundamental.

Los laboratorios de microbiología clínica están experimentando una drástica transformación como consecuencia de la automatización. Avances tecnológicos como la espectrometría de masas, la microbiología digital y el diagnóstico molecular coinciden con esta tendencia. Gracias a estos avances, la eficiencia de los laboratorios se disparará, la excelencia operativa alcanzará nuevas cotas y los resultados se estandarizarán de forma más coherente. No cabe duda de que estas innovaciones en el diagnóstico microbiológico repercuten en la atención al paciente, ya que acortan el tiempo necesario para obtener los resultados (Vila et al., 2017).

1.1. Descripción y formulación del problema

Por lo expuesto, es importante mejorar las técnicas de diagnóstico y reducir tiempos. Existen diferentes tipos de carbapenemasas, pero estas son las más conocidas alrededor del mundo OXA-48, KPC, VIM, IMP y NDM. La detección fenotípica de carbapenemasas es buena pero no siempre las detecta. La detección de este tipo de cepas de un hemocultivo puede tardar entre 16 y 72 horas, después de que el equipo automatizado detecte la botella como positiva. En el caso de otras pruebas en el medio como son las colorimétricas Carba NP requieren de 2 a 24 horas después del primer resultado de sensibilidad. Las pruebas moleculares son consideradas como Gold estándar, pero son costosas y muchos laboratorios no cuentan con el equipamiento.

La técnica de flujo laminar, inmunocromatografía, se desarrolló hace algunos años para muestras aisladas en medios sólidos, detectando epítomos específicos para las carbapenemasas en un tiempo muy corto, menos de 15 minutos y con excelentes resultados de sensibilidad y especificidad para las diferentes variantes y especies de carbapenemasas.

Por lo expuesto contar con pruebas rápidas en el área de microbiología, beneficiaría al diagnóstico precoz y tratamiento oportuno de personas con bacteriemias en sangre, causadas por bacilos Gram negativos ya conocidos.

1.1.1. Formulación del problema

Pregunta general

¿Cuál es la evaluación del método rápido modificado para la detección de carbapenemasas en hemocultivos?

Preguntas específicas

- ¿Cuál es la concordancia del método rápido modificado con el método convencional de detección de carbapenemasas en hemocultivos?
- ¿Cuál es la sensibilidad diagnóstica del método rápido modificado para la detección de carbapenemasas en hemocultivos?
- ¿Cuál es la especificidad diagnóstica del método rápido modificado para la detección de carbapenemasas en hemocultivos?

1.2. Antecedentes

1.2.1. Antecedentes internacionales

Hamprecht et al. (2018), con el título, Detección rápida de carbapenemasas tipo NDM, KPC y OXA-48 directamente de hemocultivos positivos usando el ensayo de inmunocromatografía. Lo realizó en el hospital de Cologne en Alemania. Estudio descriptivo, de corte transversal. Se usaron 170 cultivos caracterizados por biología molecular. 126 de ellos eran carbapenemasas positivas y el resto negativas. Tipo OXA 48 (79), KPC (18), NDM (29) En el cual se trató la muestra de hemocultivos inoculados con 0.5 Mc farland y con una dilución de 1:1000

insertando 10 ul a los 5ml de sangre que se devuelve a las botellas de hemocultivos para probar la prueba de inmunocromatografía una vez que estas suenen en el equipo automatizado. Concluyendo con resultados del 100% para la sensibilidad y 100% de especificidad comparado con biología molecular.

Bodendoerfer et al. (2019), con el título, Identificación rápida de carbapenemasas tipo NDM, KPC, IMP, VIM y OXA 48 de hemocultivos usando la prueba de flujo lateral. Realizó el estudio en la universidad de Zúrich, estudio descriptivo de corte transversal, con el objetivo de demostrar la identificación rápida de cepas productoras de carbapenemasa usando la sangre de los hemocultivos positivos con la técnica de flujo lateral. Se usaron 127 cepas las cuales ya estaban identificadas por biología molecular KPC (43), NDM (29), OXA (56), VIM (11), IMP (3), y contaron con 31 cepas que no tenían carbapenemasa. Se trabajó bajo el protocolo inicial que Hamprecht publicó en el 2018. Donde se da la centrifugación y posteriormente se hizo un lavado con agua destilada. Usa el sedimento para poder usarlo con la solución de buffer que trae el reactivo y así poder usarlo con el cassette de flujo lateral. Concluyendo que una vez tratada la muestra Resultando una sensibilidad del 100% y una especificidad del 100% comparada con la biología molecular.

Han et al. (2021), en el Hospital de Huashan China se realizó una evaluación de tres marcas de inmunocromatografía. NG-test Carba 5, RESIST-5 O.O.K.N.V y IMP K-SeT. Identificando así los 5 tipos más importantes de carbapenemasas como son OXA 48, KPC, NDM, IMP, VIM. Se emplearon 186 cepas, las cuales tenían identificación previa molecular. Los resultados concluyeron que las tres marcas tenían valores de casi el 100% de sensibilidad y especificidad.

Wonkeun Song et al. (2019). El estudio llamado Identificación rápida de carbapenemas productoras de OXA 48, KPC, NDM y VIM. Fue realizado en el hospital sagrado corazón de Seoul. Evaluaron el desempeño del RESIST-4 O.K.N.V. (OKNV) (Coris BioConcept, Gembloux, Bélgica) para la identificación de OXA-48, KPC, NDM y VIM cultivadas en agar sangre de oveja y el medio CHROMagar KPC. Sesenta y cinco aislados de enterobacterias resistentes a carbapenémicos con contenido de carbapenemasa caracterizado se utilizaron para evaluar el ensayo de OKNV. El ensayo identificó correctamente los 30 aislamientos que produjeron una de las cuatro familias de carbapenemasas diana. Además, identificó correctamente 15 aislamientos que coprodujeron KPC y NDM, VIM y NDM o similar a OXA-48 y NDM, pero no pudieron identificar un aislado de *Klebsiella pneumoniae* coproductor de NDM-1 y OXA232. Los 16 no productores de carbapenemasas y cuatro aislados de carbapenemasas mostraron resultados negativos y no se observaron reacciones cruzadas. En general, la sensibilidad y la especificidad del ensayo fueron del 97,8% y el 100%, respectivamente.

Cointe et al. (2018) se realizó en el Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris. Publicación con el título de Evaluación de desempeño del RESIST-4 O.K.N.V. ensayo (Coris) con 98 aislados para detectar carbapenemasas de tipo OXA-48 y KPC, NDM y VIM directamente en hemocultivos humanos positivos. Los aislamientos de tipo OXA-48 y KPC se detectaron correctamente, pero la detección de carbapenemasas de tipo NDM y VIM fue débil y variable. Concluyeron que la repetición de la prueba en un subcultivo de 4 h mejora la detección de carbapenemasas de tipo NDM y VIM al 100%.

1.2.1. Antecedentes nacionales

Angles-Yanqui et al. (2020). Panorama de las carbapenemasas en Perú. La literatura biomédica publicada entre el 1 de enero de 2000 y el 15 de septiembre de 2019 fue objeto de una búsqueda exhaustiva. Se caracterizaron genóticamente 313 carbapenemasas en catorce investigaciones. De ellas, 103 estaban relacionadas con investigaciones sobre Enterobacteriaceae; 74 trataban sobre *Klebsiella pneumoniae*, 11 sobre *Proteus mirabilis*, 7 sobre *Enterobacter cloacae* y 11 sobre otras especies. Hubo un total de 61 casos de blaNDM, 39 de blaKPC y 3 de blaIMP. Del número total de enzimas, 64 son metalobetalactamasas y 39 son betalactamasas de serina en función de su estructura molecular. Se incluyó un total de 84 informes para *Pseudomonas aeruginosa*, de los que 79 correspondían a blaIMP, 4 a blaVIM y 1 a blaGES. En resumen, las carbapenemasas reportadas por pacientes peruanos son escasas y la mayoría de los hallazgos genotípicos provienen de hospitales de la capital del país.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Evaluar el método rápido modificado para la detección de las carbapenemasas en hemocultivos.

1.3.2. Objetivos específicos

- a. Determinar la concordancia del método rápido modificado con el método convencional de detección de carbapenemasas en hemocultivos.
- b. Determinar la sensibilidad diagnóstica del método rápido modificado para la detección de carbapenemasas en hemocultivos.

- c. Determinar la especificidad diagnóstica del método rápido modificado para la detección de carbapenemasas en hemocultivos.

1.4. Justificación

1.4.1. Justificación teórica

El Centro de Control y Prevención de Enfermedades clasifica la aparición de Enterobacterias productoras de carbapenemasa como una de nuestras amenazas de resistencia más urgentes en la actualidad. Aunque la epidemiología de las carbapenemasas varía según la geografía, el problema es casi siempre el mismo. Una vez que un organismo productor de carbapenemasa ha surgido en un área como KPC, NDM, VIM, IMP u OXA-48 – casi siempre conduce a un alto nivel de resistencia a los Carbapenémicos. Cuando la infección es causada por un productor de carbapenemasa, se necesita instaurar un tratamiento lo más pronto posible. La producción de Carbapenemasa en una cepa podría significar que el monoterapiamiento a base de Carbapenémicos, muy probablemente fallará. Por lo que se propone con esta investigación es evaluar la concordancia el método rápido en hemocultivos usando la muestra directamente en el ensayo de inmunocromatografía. Este protocolo ya ha sido probado dando resultados satisfactorios.

1.4.2. Justificación práctica

Por lo tanto, una única cepa puede ser una fuente de propagación de una cepa a otra y de una especie bacteriana a otra cuando hablamos de resistencia e infecciones intrahospitalarias. En tanto la detección temprana es importante para evitar una mayor propagación, especialmente en entornos nosocomiales. Una prueba rápida es la clave para la lucha contra la resistencia a los Carbapenémicos. En este estudio se empleará la prueba rápida de inmunocromatografía de la

marca RESIST-5 O.K.N.V. K-SeT (Coris BioConcept, Gembloux, Belgium). Y bajo este método rápido, se propone determinar la sensibilidad, especificidad y concordancia frente a la forma convencional que se usa la inmunocromatografía en las muestras de los hemocultivos positivos a bacilos gram negativos.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1. *Bacteriemia y hemocultivos*

El concepto de la bacteriemia es la presencia de microorganismos en la sangre y que estos se puedan evidenciar mediante alguna técnica de reconocimiento en los hemocultivos. Como se origina la bacteriemia, pues esta es una interrogante que tiene que ver con la condición del paciente (Rodríguez, 2019).

Por consiguiente, la bacteriemia es una infección que puede traer graves complicaciones. Esta se manifiesta cuando las bacterias ingresan a torrente sanguíneo y van multiplicándose, dejando sin efecto el poder inmunológico del sistema reticuloendotelial para su eliminación. El origen de esta multiplicación de microorganismos sin límites se puede producir desde un foco extravascular o de uno intravascular como una infección en los dispositivos usados (Doern et al., 2019)

Debemos saber que la escasa cantidad de bacterias encontradas en el torrente sanguíneo durante un caso de bacteremia, puede estar entre las 10 ufc/ml y 104 ufc/ml. Y en un 20% de casos de bacteremia podría estar entre 10 ufc/ml (Fazzeli et al., 2013).

Esta condición permite que solo las pruebas de laboratorio altamente sensibles puedan ser utilizadas en el reporte precoz de los microorganismos involucrados y que más allá de utilizar el examen directo de la sangre usando la famosa tinción Gram para un reporte preliminar donde

podamos diferenciar bacilos de cocos, no podríamos adelantar alguna pista relevante para el tratamiento del paciente.

Por consiguiente, el uso de las botellas de hemocultivo sigue siendo una práctica aun irremplazable para determinar la etiología de una bacteriemia. Es de fácil implementación y para hospitales con gran número de hospitalizados es útil su seguimiento, es hasta el momento una metodología que permite el aislamiento del microorganismo viable y recuperable para realizar la prueba de sensibilidad. El protocolo de la buena toma de los hemocultivos y de las metodologías en el reporte y recuperación de bacterias hace exitoso el tratamiento del paciente.

A. BD BACTEC™. En los últimos años, este método de detección de bacteriemias en hemocultivos se ha hecho cada vez más popular. Forma parte del sistema BD BACTEC™ FX, un sistema modular con una gran capacidad de almacenamiento y agitación continua que mejora el rendimiento del microorganismo. Los sensores de gas del bacteriómetro del sistema miden la cantidad de fluorescencia emitida por cada botella, lo que indica la liberación de CO₂ por parte de las bacterias. Así, es como esta técnica puede detectar bacteriemias en sangre e identificar al microbio responsable.

B. Resistencia a los antimicrobianos. En 2019, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reveló que estaban creando antibióticos para hacer frente a las infecciones más apremiantes; sin embargo, solo seis de estos medicamentos tenían buenas posibilidades de combatir con éxito la resistencia. El hecho de que los medicamentos de alta calidad son difíciles de conseguir y mucho más problemático es que no están fácilmente disponibles. Se necesitan urgentemente políticas para mejorar la gestión, ya que los sistemas sanitarios son los más afectados

en general, independientemente del grado de desarrollo de un país. El desarrollo de farmacoresistencia en los microbios es el resultado de alteraciones adaptativas provocadas por el tratamiento antibiótico. Esto hace que los antimicrobianos sean inútiles, lo que significa que las enfermedades persisten en los seres humanos y pueden transmitirse fácilmente a otros individuos (Wattal y Goel, 2020).

La resistencia a los antimicrobianos supone un peligro para la sociedad y repercutirá de un modo u otro en el crecimiento económico de los países, como saben la salud pública, la sanidad mundial y los gobiernos.

C. Carbapenemasas. La resistencia al grupo de los carbapenems se denomina carbapenemasas. Se trata de enzimas producidas por bacilos Gram negativos que hidrolizan los carbapenems, lo que provoca resistencia a los carbapenems y, en la mayoría de los casos, a todos los betalactámicos. Las enterobacterias se clasifican como resistentes a los carbapenems cuando presentan concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) de $\geq 2 \mu\text{g/ml}$ para ertapenem y $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ para doripenem, meropenem o imipenem (Acosta y Vargas, 2018). Las carbapenemasas se clasifican en muchas categorías, incluidas las carbapenemasas de serina, que se definen por la presencia de serina en la posición 70 de su sitio activo, a saber, las de clase A y D (García, 2018).

Clase A: Existen cinco categorías basadas en su filogenia: SME, NMC e IMI, codificadas en su estructura genética, y GES y KPC, codificadas en plásmidos. Las carbapenemasas de tipo KPC representan la categoría más importante desde el punto de vista terapéutico, ya que estos gérmenes suelen desarrollar betalactamasas adicionales, lo que complica una terapia eficaz, y también son los más prevalentes (García, 2018).

Clase D: el miembro más significativo de este grupo es el OXA-48, que tiene una actividad superior en comparación con los demás, hidrolizando el imipenem casi diez veces más eficazmente, y es el más ampliamente descrito. Además, existen OXA-23, OXA-58, OXA-72 y OXA-245 (Bush y Bradford, 2020)

Las metalobeta-lactamasas (MBL) se distinguen por la presencia de uno o varios iones Zn^{2+} en su sitio activo, que sustituyen a la serina y facilitan el ataque nucleofílico al anillo betalactámico. Las carbapenemasas de clase B se incluyen en esta categoría de carbapenemasas (Bush y Bradford, 2020)

La clase B incluye los tipos más representativos: VIM, NDM e IMP. Las carbapenemasas hidrolizan todos los betalactámicos excepto el aztreonam, un monobactámico por el que muestran una afinidad mínima. Las cepas serina y metalo suelen producir varios tipos de carbapenemasas (Cercenado, 2015).

D. Métodos de detección de las carbapenemasas. Según el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorios (CLSI, 2019) consigna la necesidad de implementar pruebas rápidas como método de screening. Para este propósito el Carba NP que, en menos de un par horas, nos puede predecir la presencia de carbapenemasas. En nuestra región es más común una variante de esta metodología, llamada Blue Carba®, cual procedimiento es más simple de realizar. Cabe mencionar que estas técnicas no tienen buen desempeño cuando están frente a carbapenemasas tipo OXA, pues puede demorar el viraje de color o, lo que sería peor, dar un resultado negativo.

Por lo tanto, hay que tener mucho cuidado cuando, por el perfil de resistencia del antibiograma o por el estudio de cepas de la bacteria *Acinetobacter baumannii*, se sospeche la presencia de carbapenemasas tipo OXA. El CLSI recomienda complementar el Carba NP con un

método de inactivación de carbapenémicos (mCIM), y luego, frente a un resultado positivo, se complementa con discos de sinergia como son ácido borónico o EDTA, para poder determinar la clase de la enzima.

La inmunocromatografía detecta la identidad de la enzima; de esta manera, termina el flujo de estudio de la carbapenemasa con los métodos fenotípicos en el mercado.

E. Prueba de flujo lateral O.K.N.V.I. RESIST-5. Conocido como prueba inmunocromatográfica y es la que se usa en el presente trabajo, esta metodología está basada en el uso de partículas de oro coloidal sobre tiras de nitrocelulosa con anticuerpos monoclonales específicos para los epítomos presentes en las carbapenemasas tipo OXA-48, KPC, NDM y VIM. Las pruebas están preparadas para su aplicación inmediata y utilizan tecnología de membrana que incorpora nanopartículas de oro coloidal. El kit está diseñado para la detección de carbapenemasas a partir de una sola colonia bacteriana aislada de Enterobacteriaceae o BGN NF cultivada en una placa de agar. Cada bolsa incluye dos casetes de flujo lateral diseñados para la identificación de (1) OXA-48, KPC, NDM y (2) VIM e IMP.

Para identificar las carbapenemasas OXA-48, KPC y NDM se sensibiliza una membrana de nitrocelulosa con un anticuerpo monoclonal dirigido a las carbapenemasas OXA-48 y sus variaciones, excepto OXA-163, KPC y NDM, junto con un reactivo de captura de control en el primer casete.

Con respecto al casete separado. La membrana de nitrocelulosa también se sensibiliza utilizando cuatro conjugados distintos de nanopartículas de oro coloidal: uno dirigido a un segundo epítomo de carbapenemasa OXA48, otro dirigido a un segundo epítomo de KPC, un cuarto dirigido

a la carbapenemasa NDM y un cuarto que sirve de control para garantizar la precisión de las pruebas.

Para la identificación de VIM y IMP Se sensibiliza una membrana de nitrocelulosa con un anticuerpo monoclonales de los tipos de carbapenemasas de tipo VIM e IMP, además de un reactivo de captura para la línea de control. Las partículas de oro coloidal se fijan a las membranas del ensayo de flujo lateral. Un conjugado dirigido a las carbapenemasas VIM, un conjugado dirigido a las carbapenemasas IMP y un conjugado de control.

Tras la resuspensión, las bacterias ascenderán al entrar en contacto con la tira, lo que dará lugar a la formación de una línea roja a través de la interacción de sus diversos anticuerpos. Esto indicará una prueba positiva. Por consiguiente, las diversas presentaciones incluirían IMP, VIM, KPC, OXA-48 y NDM.

La migración procede por difusión pasiva, y los conjugados y el material de la muestra entran en contacto con el reactivo de control de la línea (superior), que se une al conjugado de control (línea «C»), creando una línea roja. Las líneas rojas de la tira aparecen al cabo de 15 minutos.

El límite de detección determinado mediante proteínas recombinantes purificadas de OXA-48, KPC, NDM, VIM e IMP es de 0,125 ng/ml, 0,625 ng/ml, 0,25 ng/ml, 0,23 ng/ml y 1,56 ng/ml, respectivamente.

La sensibilidad y especificidad del método según el fabricante es del 100% para las carbapenemasas de tipo KPC Y OXA 48. Mientras que para las NDM la sensibilidad es de 91.2% y especificidad del 100%. En cuanto a las de tipo VIM la sensibilidad es de un 90% y especificidad de un 100% finalmente las de tipo IMP tiene una sensibilidad de 84.2% y una especificidad del 100%.

Las ventajas de las pruebas inmunocromatográficas es su rapidez y como podemos observar la especificidad en todas las clases de carbapenemasas es de un 100% (MacDonald y Chibabhai, 2019).

F. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Puede identificar genes que codifican carbapenemasas. Es bastante específico, pero no puede encontrar nuevos genes de resistencia, por lo que no es muy útil. Una metodología cualitativa automatizada en tiempo real desarrollada para la detección de los genes carbapenemasa blaVIM/blaIMP blaKPC, blaNDM, y blaOXA-48 utilizando cepas previamente aisladas, la versión en cartucho Xpert® Carba-R es una versión simplificada de la PCR convencional.

III. MÉTODO

3.1. Tipo de investigación

La investigación era un estudio transversal que utilizaba un método cuantitativo y un diseño no experimental, retrospectivo y descriptivo; esto significaba que sólo analizaríamos los factores ambientales una vez (Hernández, 2018).

3.2. Ámbito temporal y espacial

La presente investigación se realizó en octubre y noviembre de 2023 en el Laboratorio de Microbiología del Departamento de Patología del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN). La institución está ubicada en la Avenida Angamos 2520 en la zona de Surquillo de Lima.

3.3. Variables

Tabla 1

Operacionalización de variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Escala de medición
- Método rápido modificado para la detección de carbapenemasas	. Técnica de detección de carbapenemasas que utiliza un enfoque modificado para obtener resultados rápidos.	Técnica de detección de carbapenemasas a partir de botellas de hemocultivos.	Presencia/Ausencia	Concordancia Sensibilidad Especificidad	categoriao
- Detección de carbapenemasas	. Proceso de identificación de enzimas carbapenemasas responsables de la resistencia a antibióticos carbapenemicos.	Resultados positivo o negativo para la presencia de carbapenemasas.	Tipo de carbapenemasa	NDM, VIM, OXA48, IMP KPC	

3.4. Población y muestra

3.4.1. Población

La población estuvo compuesta por cepas bacilos Gram negativos con mecanismos de resistencia a Carbapenémicos del cepario del laboratorio de microbiología, ubicado en la conservadora de -20 °C, están fueron recolectadas de cultivos positivos de pacientes atendidos por la institución en el periodo 2018 al 2022. Estas cepas cuya resistencia fueron confirmadas por los algoritmos que el laboratorio posee como es una sensibilidad el automatizada en el equipo BD Phoenix 100TM bajo criterios CLSI y sus genes de resistencia fueron confirmados por el método Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) usando los cartuchos de genxpert.

3.4.2. Muestra

La muestra fue de 75 cepas, 45 productoras de carbapenemasas (2 fueron IMP, 13 fueron del tipo KPC, 2 del tipo OXA - 48, 1 del tipo VIM y 27 del tipo NDM). Los otros 30 aislamientos no eran poseedores de ninguno de estos genes.

3.4.3. Muestreo

Se realizó un muestreo de tipo no probabilístico por conveniencia.

A. Criterios de inclusión. Aislamientos del cepario del laboratorio de microbiología del INEN en el periodo 2018 al 2022 de bacilos Gram negativos con mecanismo de resistencia a carbapenemicos confirmados por PCR y que tengan resultados de prueba inmunocromatográfica.

B. Criterios de exclusión. Aislamientos que no tenían viabilidad , otros aislamientos que no posean resultados de genexpert y de la prueba inmunocromatográfica.

3.5. Instrumentos

La técnica de estudio fue la observación mientras que el instrumento que se utilizó fue una FICHA AD HOC de recolección de datos (Anexo A).

3.6. Procedimientos

Se recolectaron 75 muestras, 45 cepas con presencia de mecanismos de resistencia tipo OXA-48, NDM, KPC, VIM, IMP y 30 cepas negativas a este tipo de resistencia los cuales se encuentran a -80 C en la congeladora del laboratorio de microbiología del INEN. Para la confirmación del tipo de carbapenemasa estas cepas ya tenían la información inmunocromatográfica y de PCR a tiempo real utilizando el sistema comercial Xpert® Carba-R (Cepheid).

El procedimiento que se realizó en el presente estudio fue el de reactivación en agar sangre e incubados a 37 °C por 24 horas. El siguiente paso será hacer una suspensión 0.5 Mac Farland en solución salina, este paso es leído por el nefelómetro BD PhoenixSpec. Después se hace la inoculación de botellas de hemocultivos haciendo una dilución de 1:1000 de la primera suspensión e inoculando la botella con 10 ul de esta en frascos de hemocultivo BD Bactec Plus Aerobic de pacientes cuyos hemocultivos fueron monitorizados por 5 días y con resultado negativo. Los frascos se insertaron en un sistema de hemocultivo automatizado (BD) Bactec FX; una vez que las botellas indiquen la positividad, se alicuotó 1ml de muestra de la botella más 500ul de agua destilada para romper los hematíes en un vial y lo centrifugamos a 13000 g por 1 minuto, decantamos el sobrenadante y con un 1ml de agua destilada realizamos agitación manual volvemos a centrifugar. Una vez obtenido el sedimento, se procede a utilizar el pellet de la muestra y suspendemos en el buffer de la prueba tal como dice el inserto de la prueba inmunocromatográfica,

con 12 gotas del tampón y procedemos a mezclar y echar 3 gotas en cada cassette RESIST-5 O.K.N.V. K-SeT (Coris BioConcept, Gembloux, Belgium). Para ver las líneas de la prueba solo es considerado lo que marca dentro de los 15 minutos posteriores.

Se referenciará como “método comparador” para la evaluación de concordancia a los resultados ya obtenidos por el método de manera convencional. Se usarán las fichas de recolección de datos para este fin. Para los resultados de sensibilidad y especificidad diagnóstica se compararán con los resultados de las cepas confirmadas por PCR.

3.7. Análisis de datos

Se utilizó el programa estadístico SPSS versión 25 para calcular el índice Kappa de Cohen, evaluando la concordancia entre el método rápido modificado y el método convencional. Además, se emplearon Excel 2010 y tablas 2x2 para evaluar la sensibilidad y especificidad diagnósticas de la prueba considerada.

3.8. Consideraciones éticas

El presente estudio no requirió consentimiento informado, ya que utilizamos aislados de una base de datos mantenida por el depósito del laboratorio de microbiología del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. La información, incluidos los nombres y los registros de los pacientes, se codificó. La Asociación Médica Mundial ha publicado la Declaración de Helsinki como marco sugerido de principios éticos para orientar a las personas que participan en investigaciones médicas en seres humanos (Asociación Médica Mundial, 2008).

IV. RESULTADOS

Con un total de 75 aislamientos de bacterias Gram Negativas tipificadas molecularmente fueron incluidos en el estudio (Tabla 2). De los 45 aislamientos productoras de carbapenemasas, 2 fueron IMP, 13 fueron del tipo KPC, 2 del tipo OXA - 48, 1 del tipo VIM y 27 del tipo NDM. Los otros 30 aislamientos no eran poseedores de ninguno de los genes de carbapenemasas.

Tabla 2

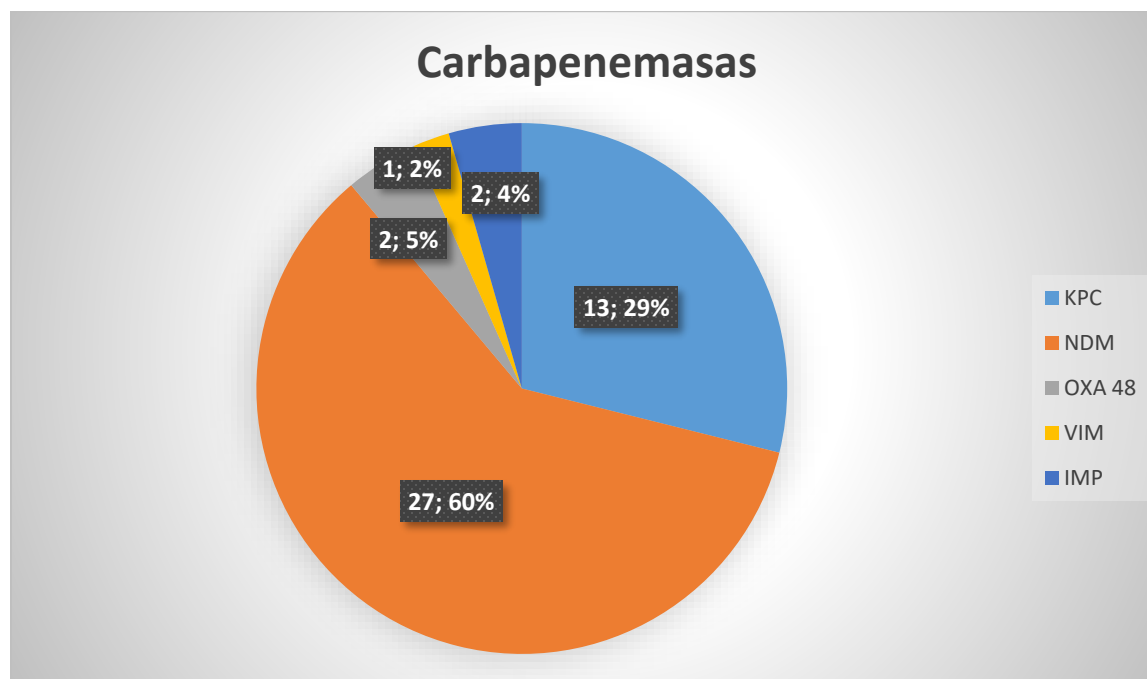
Cepas utilizadas en el estudio (n=75)

Aislamiento	Cantidad	Fuente	Metodología	Gen
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	2	INEN	PCR	<i>Bla IMP</i>
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	5	INEN	PCR	<i>Bla KPC</i>
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	1	INEN	PCR	<i>Bla VIM</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	INEN	PCR	<i>Bla OXA-48</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	INEN	PCR	<i>Bla KPC</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	21	INEN	PCR	<i>Bla NDM</i>
<i>Escherichia coli</i>	6	INEN	PCR	<i>Bla NDM</i>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	INEN	PCR	<i>Bla KPC</i>
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	20	INEN	PCR	---
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10	INEN	PCR	---

En la tabla se detallan las cepas usadas para el estudio donde se puede observar que se usaron cepas que tenían los genes de resistencia a las carbapenemasas y las muestras de controles negativos que no las tenían para realizar los cálculos de concordancia y los porcentajes de sensibilidad y especificidad analítica.

Figura 1

Distribución de las cepas que participaron en este estudio



En la figura 1 se puede apreciar la distribución de las cepas portadoras de carbapenemasas que participaron en este estudio siendo las de mayor porcentaje las de tipo NDM seguidas por las KPC.

Tabla 3

Resultados de los métodos convencionales, prueba rápida y PCR

	Identificación	Método convencional	Método rápido	PCR
1	PAE	VIM	VIM	VIM
2	KPN	OXA-48	OXA-48	OXA-48
3	KPN	OXA-48	OXA-48	OXA-48
4	ECO	NDM	NDM	NDM
5	ECO	NDM	NDM	NDM
6	ECO	NDM	NDM	NDM
7	ECO	NDM	NDM	NDM
8	ECO	NDM	NDM	NDM
9	ECO	NDM	NDM	NDM

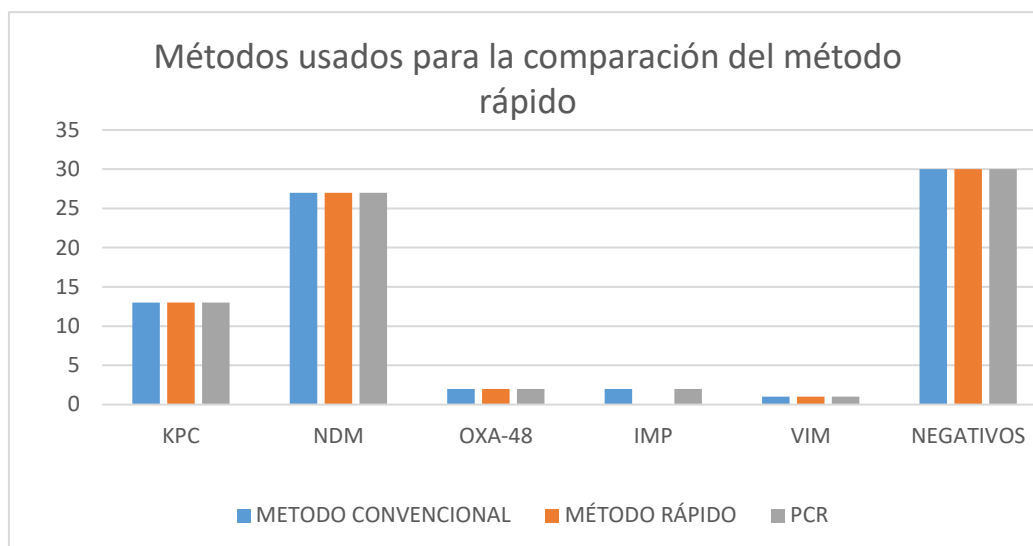
10	KPN	KPC	KPC	KPC
11	KPN	KPC	KPC	KPC
12	KPN	KPC	KPC	KPC
13	KPN	KPC	KPC	KPC
14	KPN	KPC	KPC	KPC
15	KPN	KPC	KPC	KPC
16	KPN	KPC	KPC	KPC
17	KPN	KPC	KPC	KPC
18	KPN	KPC	KPC	KPC
19	KPN	KPC	KPC	KPC
20	KPN	KPC	KPC	KPC
21	KPN	KPC	KPC	KPC
22	KPN	KPC	KPC	KPC
23	KPN	KPC	KPC	KPC
24	KPN	KPC	KPC	KPC
25	KPN	KPC	KPC	KPC
26	KPN	KPC	KPC	KPC
27	KPN	KPC	KPC	KPC
28	KPN	KPC	KPC	KPC
29	KPN	KPC	KPC	KPC
30	KPN	KPC	KPC	KPC
31	PAE	IMP	NO DETECTADO	IMP
32	PAE	IMP	NO DETECTADO	IMP
33	PAE	KPC	KPC	KPC
34	PAE	KPC	KPC	KPC
35	PAE	KPC	KPC	KPC
36	PAE	KPC	KPC	KPC
37	PAE	KPC	KPC	KPC
38	KOX	KPC	KPC	KPC
39	KPN	KPC	KPC	KPC
40	KPN	KPC	KPC	KPC
41	KPN	KPC	KPC	KPC
42	KPN	KPC	KPC	KPC
43	KPN	KPC	KPC	KPC
44	KPN	KPC	KPC	KPC
45	KPN	KPC	KPC	KPC
46	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO

47	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
48	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
49	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
50	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
51	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
52	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
53	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
54	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
55	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
56	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
57	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
58	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
59	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
60	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
61	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
62	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
63	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
64	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
65	PAE	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
66	KPN	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
67	KPN	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
68	KPN	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
69	KPN	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
70	KPN	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
71	KPN	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
72	KPN	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
73	KPN	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
74	KPN	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO
75	KPN	NO DETECTADO	NO DETECTADO	NO DETECTADO

En la presente tabla se presentan los resultados de cada una de las cepas del presente estudio, dándonos la información de los genes detectados por PCR, y la prueba inmunocromatográfica tanto de la forma convencional como del método rápido modificado puesto a evaluación.

Figura 2

Comparación de métodos para la detección de tipo de carbapenemasa



La figura 2 nos muestra la comparación de los métodos de método convencional, la prueba de PCR y el método rápido que estamos evaluando, a simple vista podemos observar que la comparación llega casi al 100 %.

Tabla 4

Determinación del índice kappa

		MÉTODO CONVENCIONAL		TOTAL
		CARBAPENEMASA	NO CARBAPENEMASA	
MÉTODO RÁPIDO	CARBAPENEMASA	Concuerdan (a)	Discordancia (b)	a + b
	NO CARBAPENEMASA	Discordancia (c)	Concuerdan (d)	c + d
		Total de carbapenemasas	de Total de negativas a carbapenemasas	Total de pruebas

En una tabla se ponen las variables para evaluar la concordancia y así poder responder a nuestra pregunta, calcularemos el valor del índice de Kappa. Remplazando las variables tenemos la siguiente tabla:

		MÉTODO COMPARADOR		TOTAL
		CARBAPENEMASA	NO CARBAPENEMASA	
MÉTODO A	CARBAPENEMASA	43	0	43
COMPARAR	NO CARBAPENEMASA	2	30	2
		45	30	75

Nuestra primera pregunta de investigación fue ¿cuál es la concordancia del método rápido modificado con el método convencional de detección de carbapenemasas en hemocultivos?

El índice de Kappa calculado es de 0.94 con ello podemos afirmar que existe una buena concordancia entre el método rápido modificado y el método convencional “Método comparador”. Siendo esta la respuesta a nuestra primera pregunta de investigación.

Para la evaluación de los datos obtenidos también hallamos los porcentajes de acuerdos positivos, negativos y generales. Teniendo como resultados la siguiente data:

¿Cuál es la sensibilidad diagnóstica del método rápido modificado para la detección de carbapenemasas en hemocultivos?

$$PAP = [a / (a + c)] * 100$$

Acuerdos positivos: 95.6 % = sensibilidad diagnóstica

¿Cuál es la especificidad diagnóstica del método rápido modificado para la detección de carbapenemasas en hemocultivos?

$$PAN = [d / (b + d)] * 100$$

Acuerdos negativos: 100 % = especificidad diagnóstica

$$PAG = [(a + d) / n] * 100$$

Acuerdo general: 97.3%

V. DISCUSIÓN

Según los resultados de Hamprecht et al. (2018), y usando su protocolo coinciden los valores de especificidad diagnóstica, los de sensibilidad en forma global varían ya que en su estudio no se hallaron cepas productoras de IMP. En el presente estudio tuvimos la presencia de 2 casos pero no fueron detectados por la prueba en evaluación.

Los mismos resultados fueron encontrados en el estudio de Bodendoerfer et al. (2019) donde la sensibilidad y especificidad fueron del 100% en este estudio si se tuvieron 3 cepas de IMP.

En el estudio de Song et al. (2019), los resultados de sensibilidad fueron del 97% y de especificidad del 100% ya que hubo problemas en la determinación de una *Klebsiella pneumoniae* con carbapenemasa tipo NDM.

En el estudio de Cointe et al. (2018), las pruebas del método rápido fueron directa sin tratar la muestra, no hubo visualización de la positividad o fue muy débil de las carbapenemasas del tipo NDM y VIM por lo que sugieren una incubación de 4 horas más para su observación.

Como se ha podido evidenciar con la literatura usada como referencia para este estudio la importancia en la determinación del tipo de carbapenemasa está en el tratamiento correcto y oportuno ya que una sepsis es mortal y la probabilidad de vida disminuye al paso de las horas sin tratamiento adecuado, además de aislar al paciente debido a que las carbapenemasas son un problema a nivel hospitalario. La PCR es el método gold standard y es más confiable pero es caro y de difícil acceso, la prueba de flujo lateral o de inmunocromatografía es la alternativa, con muy buenos valores de sensibilidad y especificidad. En los resultados presentados concuerdan con todos los estudios realizados.

VI. CONCLUSIONES

6.1. Existen varias evaluaciones para poder validar una prueba clínica en este trabajo de investigación nos hemos concentrado en la evaluación de acuerdos, en el cual se compara los resultados de la prueba a evaluar frente a la prueba convencional existe un buen porcentaje de concordancia entre ambos métodos la prueba rápida convencional y la prueba rápida modificada.

6.2. Los resultados como la literatura ya lo mencionaban son buenos, la concordancia obtenida a través del índice kappa es de 0.94. lo cual nos indica que existe una buena eficiencia de la prueba.

6.3. Siguiendo con la evaluación del Método rápido modificado la prueba muestra un buen grado de desempeño y esto lo podemos deducir por los valores calculados de acuerdos positivos que al ser comparados con el método Gold estándar se convierte en la sensibilidad diagnóstica que es 95.6% y el valor de los acuerdos negativos se convierte en la especificidad diagnóstica en este caso llegando al 100%.

6.4. El método rápido modificado es sensible y específico para la detección de carbapenemasas en bacilos Gram negativos en muestras de hemocultivos. Y este puede ser, un buen reemplazo a los métodos convencionales como es el método convencional.

VII. RECOMENDACIONES

7.1. El tener más pruebas rápidas para el diagnóstico favorece enormemente la sobrevida del paciente en el caso de una sepsis y el uso de los recursos en el laboratorio clínico, deben existir más iniciativas para posteriores estudios.

7.2. Este estudio se ha basado en las carbapenemasas más comunes en nuestro medio y durante un determinado lapso de tiempo, es importante realizar la vigilancia epidemiológica para ver qué tipo de cepas están rondando en nuestro país, por lo que es importante la data de los hospitales nacionales, ya que no existe muchas publicaciones a nivel nacional.

7.3. Este tipo de evaluación es de correlación y nos ha servido para determinar la eficiencia, sensibilidad y especificidad de una prueba, pero existen más pruebas para poder validar una prueba diagnóstica como el límite de detección y los estudios de reactividad cruzada.

7.4. Es importante seguir investigando e indagando en nuevas alternativas que puedan disminuir el tiempo de reporte de los hemocultivos positivos para así poder frenar la alta tasa de mortalidad de bacteriemias con el uso de un tratamiento correcto, eficaz y oportuno, sobretodo en pacientes inmunosuprimidos.

VIII. REFERENCIAS

- Acosta, R. G. y Vargas, C. M. (2018). Mecanismos de resistencia bacteriana. *Diagnóstico*, 57(2), 82-86.
- Angles-Yanqui, E., Huaranga-Marcelo, J., Sacsquispe-Contreras, R., y Pampa-Espinoza, L. (2020). Panorama de las carbapenemasas en Perú. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 44, e61.
- Asociación Médica Mundial (2008). Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 24(2), 209-212.
- Bodendoerfer, E., Keller, P. M. y Mancini, S. (2019). Rapid identification of NDM-, KPC-, IMP-, VIM-and OXA-48-like carbapenemase-producing Enterobacteriales from blood cultures by a multiplex lateral flow immunoassay. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 74(6), 1749-1751. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz056>
- Bush, K. (1996). Is it important to identify extended-spectrum beta-lactamase-producing isolates? *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 15(5), 361-364. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01690090>
- Bush, K. y Bradford, P. A. (2020). Epidemiology of β -Lactamase-Producing Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(2), e00047-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00047-19>
- Bush, K., Jacoby, G. A. y Medeiros, A. A. (1995). A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 39(6), 1211-1233. <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.39.6.1211>
- Chartone de Souza, E. C. (1999). Las bacterias resistentes, una guerra casi perdida. *Ciencia hoy*, 9(50), 30-39.

- Cercenado, E. (2015). Detección de enterobacterias productoras de carbapenemasas en la rutina del laboratorio. *Rev Esp Quimioter*, 28(1), 8-11. https://seq.es/wp-content/uploads/2015/02/seq_0214-3429_28_sup1_cercenado.pdf
- CLSI (2019). *M100: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. CLSI. https://clsi.org/media/2663/m100ed29_sample.pdf
- Cointe, A., Bonacorsi, S., Truong, J., Hobson, C., Doit, C., Monjault, A. y Birgy, A. (2018) Detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in positive blood culture using an immunochromatographic RESIST-4 O.K.N.V. Assay. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 62(12). <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.01828-18>
- Daza P. (1998). Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Inf Ter Sist Nac Salud*, 22, 57-67.
- Doern, G. V. y Carroll, K. (2019). Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: A Comprehensive Update on the Problem of Blood Culture Contamination and a Discussion of Methods for Addressing the Problem. *Clinical microbiology reviews*, 33(1), e00009-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00009-19>
- Fazzeli, H., Arabestani, M. R., Esfahani, B. N., Khorvash, F., Pourshafie, M. R., Moghim, S. y Azimian, A. (2013). A new multiplex polymerase chain reaction assay for the identification a panel of bacteria involved in bacteremia. *Advanced biomedical research*, 2(1), 7.
- Giménez, M. y Matas, L. (1988). Resistencia a los antimicrobianos relacionada con el consumo. Tema monográfico: Antibióticos en atención primaria. *JANO*, LV(1270), 55-58.
- Hamprecht, A., Vehreschild, J. J., Seifert, H. y Saleh, A. (2018). Rapid detection of NDM, KPC and OXA-48 carbapenemases directly from positive blood cultures using a new multiplex immunochromatographic assay. *PLoS One*, 13(9), e0204157. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204157>

- Hernández, L. G. y Tobon, S. (2018). Estudio de validez de contenido y confiabilidad de un instrumento para evaluar la metodología socioformativa en el diseño de cursos. *Revista espacios*, 39(53).
- Han, R., Guo, Y., Peng, M., Shi, Q., Wu, S., Yang, Y., Zheng, Y., Yin, D. y Hu, F. (2021). Evaluation of the Immunochromatographic NG-Test Carba 5, RESIST-5 OOKNV, and IMP K-SeT for Rapid Detection of KPC-, NDM-, IMP-, VIM-type, and OXA-48-like Carbapenemase Among Enterobacteriales. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1-7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.609856>
- MacDonald, J. W. y Chibabhai, V. (2019). Evaluation of the RESIST-4 OKNV immunochromatographic lateral flow assay for the rapid detection of OXA-48, KPC, NDM and VIM carbapenemases from cultured isolates. *Access Microbiology*, 1(5). <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000031>
- Mulgrave, L. (1999). Extended Spectrum-Lactamase Detection in the Clinical Laboratory: A Mini-Review. *Australian Society for Antimicrobials newsletter*, 200, 35.
- Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández-Cuenca, F. y Mirelis, B. (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(7), 524-534.
- Organización Mundial de la Salud (2020). Resistencia a los antibióticos ¿cómo se propaga? <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>
- Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud (2021). Alerta epidemiológica: Emergencia e incremento de nuevas combinaciones de carbapenemasas en Enterobacteriales en Latinoamérica y el Caribe. <https://www.paho.org/es/documentos/alerta-epidemiologica-emergencia-e-incremento-nuevas-combinaciones-carbapenemasas>

- Rodríguez Martínez, H. O. y Sánchez Lago, G. (2019). Sepsis, causas directas de muerte y resistencia bacteriana en una unidad de cuidados intensivos. *Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río*, 23(6), 836-841.
- Sáinz-Rodríguez, R., Valverde-Troya, M., Bermúdez-Ruíz, M. P. y Palop-Borrás, B. (2017). Evaluación de un ensayo inmunocromatográfico para la detección de carbapenemasa OXA-48. *Rev Esp Quimioter*, 30(1), 45-49. https://seq.es/wp-content/uploads/2015/02/seq_0214-3429_30_1_mediavilla25nov2016.pdf
- Song, W., Park, M. J., Jeong, S., Shin, D. H., Kim, J. S. y Kim, H. (2020). Rapid identification of OXA-48-like, KPC, NDM, and VIM carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from culture: evaluation of the RESIST-4 OKNV multiplex lateral flow assay. *Annals of laboratory medicine*, 40(3), 259-263. <https://doi.org/10.3343/alm.2020.40.3.259>
- Vila, J., Gómez, M. D., Salavert, M. y Bosch, J. (2017). Métodos de diagnóstico rápido en microbiología clínica: necesidades clínicas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 35(1), 41-46. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.11.004>
- Wattal, C. y Goel, N. (2020). Pediatric Blood Cultures and Antibiotic Resistance: An Overview. *The Indian Journal of Pediatrics*, 87, 125-131. <https://doi.org/10.1007/s12098-019-03123-y>
- Wink, P. L., Martins, A. S., Inamine, E., Dalmolin, T. V. y Barth, A. L. (2019). Rapid detection of the main carbapenemases in Brazil directly from spiked blood culture using the RESIST-3 O.K.N. immunoassay. *Brazilian journal of microbiology*, 50, 657-662. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00109-y>

IX. ANEXOS**Anexo A. Instrumento de recolección de datos****Ficha de resultados usando el método rápido modificado para la detección de carbapenemasas en hemocultivos**

Fecha: ___/___/___

ID cepa: _____

MBL : () Negativo

() Positivo

OXA-48: () Negativo

() Positivo

KPC: () Negativo

() Positivo

NDM: () Negativo

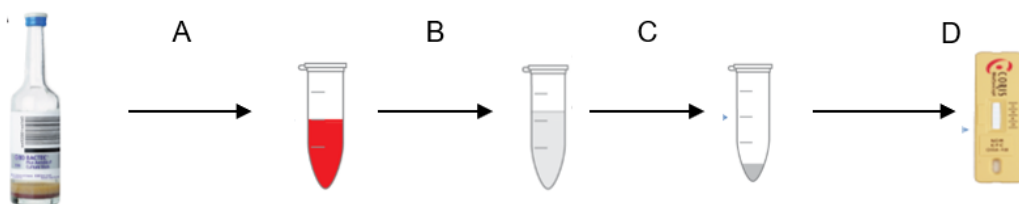
() Positivo

VIM: () Negativo

() Positivo

Anexo B. Pretratamiento de las muestras de hemocultivo

Procedimiento del método rápido modificado para la detección de carbapenemasas en hemocultivos



- A. Se toma 1ml de la botella de hemocultivo y se alícuota en un vial y se agrega 500 ul de agua destilada para romper los hematíes, se centrifuga a 13000g por 1 minuto, se decanta el sobrenadante.
- B. Se vuelve a centrifugar con 1ml de agua destilada y se decanta el sobrenadante.
- C. Se trabaja con el pellet.
- D. Se procede según el inserto del casete RESIST-4 O.K.N.V. K-SeT (Coris BioConcept, Gembloux, Belgium). Con las 12 gotas del lisante del reactivo y se procede a echar 3 gotas en cada casete.

Anexo C. Fotografías de los procedimientos trabajados

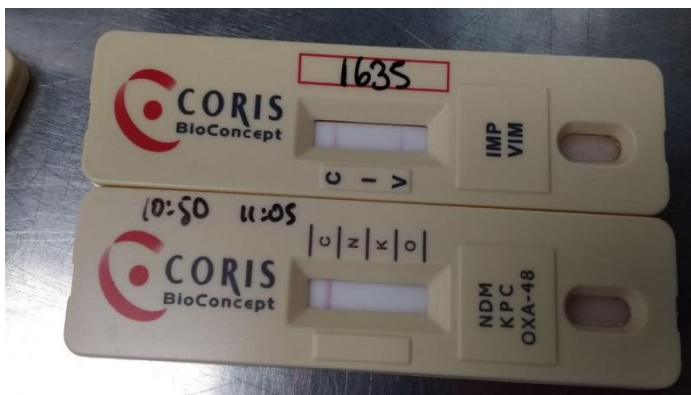


Pruebas de flujo lateral para la detección de carbapenemasas, visualización de reacciones positivas según controles.



Pellet, el cual se resuspende con buffer del mismo kit para realizar la corrida.

Visualización de la lectura con el método rápido modificado





Anexo D. Carta de aceptación del comité revisor de INEN



PERÚ

Sector
Salud

Instituto Nacional de
Enfermedades Neoplásicas



"DECENIO DE LA IGUALDAD DE OPORTUNIDADES PARA MUJERES Y HOMBRES"
"AÑO DEL FORTALECIMIENTO DE LA SOBERANÍA NACIONAL"

Lima, 29 de Diciembre 2022

CARTA N° 076-2022-CRPI-DI-DICON/INEN

T. M.

ESTHER ROSAURA BELLIDO HUASHUAYO

Investigadora Principal

Presente. -

De nuestra consideración:

Es grato dirigirnos a usted para saludarla cordialmente y a la vez informarle que el Comité Revisor de Protocolos de Investigación del INEN, revaluó el documento que contiene el levantamiento de observaciones, **APRUEBAN** el protocolo Titulado: "EVALUACIÓN DEL MÉTODO RÁPIDO MODIFICADO PARA LA DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS EN HEMOCULTIVOS". INEN 22-68

De acuerdo con las normas deberá presentar un informe por correo electrónico al término del protocolo o en su defecto el seguimiento a los 6 o 12 meses sobre los avances del mismo a esta Oficina.

Sin otro particular, quedamos de usted.

Atentamente,

M.C. Ofelia Coanqui Gonzales
Presidenta del CRPI-INEN

M.C. Karinthia Ballón Cervantes
Miembro Titular del CRPI-INEN



Cc/Archivo
OCG/lc.



Av. Angamos Este 2520
Suroccidente
Telf.: 201-6500
www.inen.sld.pe
Lima - Perú