



Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”

**Laboratorio Nacional de Referencia de IAAS
Centro de Investigación, Diagnóstico y Referencia**

**Enterobacterias productoras de carbapenemasas en
Cuba, tipos, evaluación de métodos para su detección y
antibiotipos. Instituto “Pedro Kourí”, 2018**

Trabajo en opción al Grado de Máster en
Bacteriología-Micología

Autor: Q.F. Jonnathan Gerardo Ortiz Tejedor

La Habana, 2019

Laboratorio Nacional de Referencia de IAAS Centro de Investigación, Diagnóstico y Referencia

**Enterobacterias productoras de carbapenemasas en
Cuba, tipos, evaluación de métodos para su detección y
antibiotipos. Instituto “Pedro Kourí”, 2018**

Trabajo en opción al Grado de Máster en
Bacteriología-Micología

Autor: Q.F. Jonnathan Gerardo Ortiz Tejedor

Tutores: Dra. Dianelys Quiñones Pérez, DrC
Dra. Yenisel Carmona Cartaya, MsC

Asesora: Dra. Mislady Rodríguez Ortega, MsC

La Habana, 2019

A Dios, por todas las bendiciones recibidas en mi paso por la vida y sobre todo por iluminar
y guiar mi vida profesional.

A mis padres, Gerardo y Narcisa, por su ejemplo, dedicación, perseverancia, por enseñarme a creer en mí y alentarme a que descubra nuevos caminos, me arriesgue y luche por mis ideales porque la única barrera entre el objetivo y la meta eres tú.

A la persona que llevo de la mano todos los días, mi novia, Karla por ser mi confidente, amiga, colega y compañera de viaje a lo largo de todos estos años.

Al hermano, que la vida puso en mi camino Adrián, por tantas locuras, buenos momentos y por siempre creer en mí.

A mis hermanas y sobrinos por siempre brindarme su apoyo y cariño incondicional.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradecer a todo el personal docente del Instituto “Pedro Kourí”, en especial a la Dra. Thelma ya que en todo momento me brindó el respaldo necesario y siempre de la mejor manera y Marelys, por su amistad, compañerismo y ayuda incondicional.

A mis tutoras y asesora, Dra. Dianelys, Dra. Yenisel y Dra. Misladys, por el apoyo, enseñanzas y consejos inculcados, personal y profesionalmente. A Niurka y María Karla, por las largas conversaciones y ocurrencias que me despejaban en las jornadas de duro trabajo.

Al Departamento de Microbiología, sobre todo a la Profe María Teresa, por siempre estar pendiente en cuanto al avance de la maestría y trabajo de tesis.

A mis profesores, Carlos y Gerardo que además de ser excelentes en el ámbito académico, son aún mejores en cuanto a calidad como personas. Gilda por nunca negarse a prestarme su ayuda, conocimientos y brindarme muchos consejos constructivos en el ámbito académico. Bryan y Ángel, excelentes profes, por guiarme y quitarme numerosas dudas que me surgían en el camino. Ana María, por brindarme su confianza, compartir sonrisas y por su espectacular café que me subía los ánimos en muchas jornadas extenuantes.

Y Jenny Laura, gran persona que encontré en este extenso camino que a más de ser mi profe fue mi amiga, aportándome muchas enseñanzas y las largas conversaciones y locuras, gracias profe.

A mis compañeros de maestría San Juan, Yandy, Benda, Ruxana y el Cami por brindarme su apoyo, confianza, incontables charlas tanto de carácter académico como por los momentos de risas y por nunca negarse a compartir sus conocimientos.

ABREVIATURAS

BLEA: Betalactamasa de espectro ampliado

BLEE: Betalactamasa de espectro extendido

CDC: Centro de control de enfermedades

CLSI: Instituto de estándares clínicos y de laboratorio

CIM: Concentración inhibitoria mínima

EDTA: Ácido etilendiaminotetracético

EPC: Enterobacteria productora de carbapenemasa

ERCs: Enterobacteria resistente a carbapenémicos

KPC: *Klebsiella* productora de carbapenemasas

LNR-IAAS: Laboratorio nacional de referencia de infecciones asociadas a la asistencia sanitaria

LPS: Lipopolisacáridos

MBL: Metalobetalactamasa

MDR: Multidrogorresistente

Minsap: Ministerio de salud pública

NDM: Nueva Delhi metalobetalactamasa

OMS: Organización mundial de la salud

OPS: Organización panamericana de la salud

PBP: Proteínas de unión a la penicilina

PDR: Pandrogorresistente

RAM: Resistencia antimicrobiana

ReLAVRA: Red latinoamericana de vigilancia de la resistencia a los antibióticos

XDR: Extremodrogorresistente

El diagnóstico carbapenemasas, representa un desafío por la morbilidad asociada y son causa de brotes nosocomiales donde el diagnóstico certero es vital para su contención. Se realizó un estudio observacional descriptivo ambispectivo en el Laboratorio Nacional de Referencia de Infecciones Asociadas a la Asistencia Sanitaria, que incluyó 100 aislados de enterobacterias resistentes a carbapenémicos provenientes de 11 hospitales de ocho provincias del país. Se identificaron en especies por pruebas bioquímica y el método semiautomatizado API 20E.

Se determinaron los tipos de carbapenemasas por PCR en tiempo real con los estuches comerciales MDR KPC/OXA Real TM y MDR MBL (VIM, IMP, NDM) Real TM. Se evaluó el desempeño de los métodos fenotípicos de discos combinados ROSCO y el inmunocromatográfico Resist 3 O.K.N. Por último se realizaron las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos para la clasificación en multidrogorresistentes, extremodrogorresistentes y pandrogorresistentes. De esta forma se obtuvo que 71/100 cepas presentaron un tipo de carbapenemasas. De ellas 79% fueron NDM exclusivamente y en el 21% restante se presentaron combinaciones de las enzimas tipo NDM, VIM y/o KPC. *Klebsiella pneumoniae* fue la especie más representativa (68%) y las Unidad de Cuidados Intensivos aportaron el mayor número de casos (44%). Tanto el método de discos combinados ROSCO como el Inmunocromatográfico presentaron niveles de concordancia adecuados con la PCR. Se detectó 28% de cepas multidrogorresistentes, 62% extremodrogorresistentes y 10% pandrogorresistentes. En este estudio se evidenció la circulación de diferentes tipos de carbapenemasas en Cuba, con la emergencia de la tipo VIM; así como de enterobacterias extremodrogo y pandrogorresistentes, lo cual constituye una alarma en el país.

Índice

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	OBJETIVOS.....	5
III.	MARCO TEÓRICO.....	6
	Familia <i>Enterobacteriaceae</i>	6
	Género <i>Escherichia</i>	8
	Género <i>Klebsiella</i>	8
	Género <i>Enterobacter</i>	8
	Género <i>Serratia</i>	9
	Resistencia bacteriana	9
	Principales mecanismos de resistencia a los antibióticos en enterobacterias	10
	Resistencia a betalactámicos.....	10
	Betalactamasas	10
	Clasificación de las Betalactamasas	10
	Antibióticos carbapenémicos	11
	Estructura Química	12
	Mecanismo de acción	12
	Espectro y actividad antimicrobiana.....	13
	Carbapenemasas	14
	Definición.....	14
	Tipos y clasificación de carbapenemasas	14
	Métodos de diagnóstico de carbapenemasas en laboratorios de microbiología	15
	Epidemiología de las carbapenemasas.....	17
	Impacto clínico de la incidencia y aumento de las carbapenemasas.....	20
	Tratamiento en Enterobacterias productoras de Carbapenemasas.....	21
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS	23
	IV.1. DISEÑO METODOLÓGICO	23
	IV.2. Definición y clasificación de las variables	24
	IV.3. Criterios de inclusión	26
	IV.4. Criterios de exclusión	26
	IV.5. Técnicas y procedimientos de laboratorio	26
	IV.5.1. Conservación de aislamientos	26
	IV.5.2. Identificación de especies.....	27
	Método Semiautomatizado API.....	27
	IV.5.3. Confirmación de la resistencia a carbapenémicos en aislados de enterobacterias, objetos de estudio.....	27
	IV.5.4. Determinación de los tipos de carbapenemasas en enterobacterias resistentes a los carbapenémicos (n=100).....	28

IV.5.5. Descripción de la distribución de los aislados productores de carbapenemasas según hospitales y servicios afectados (n=71)	33
IV.5.6. Aplicación del método de tabletas combinadas ROSCO para la detección fenotípica de carbapenemasas, de cepas resistentes a carbapenémicos que forman parte del estudio (n=100)	33
IV.5.7. Aplicación del método inmunocromatográfico RESIST- 3.0.K.N para la detección de carbapenemasas, de cepas resistentes a carbapenémicos que forman parte del estudio (n=100)	35
IV.5.8. Determinación la susceptibilidad y antibiotipos de los aislados productores de carbapenemasas de acuerdo a la clasificación multidrogorresistente, extremodrogorresistente y pandrogorresistente de n=71 cepas productoras de carabapenemasas	36
IV.6. Análisis estadístico	37
IV.7. Aspectos Éticos	39
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
VI. CONCLUSIONES	57
VII. RECOMENDACIONES	58
VIII. BIBLIOGRAFÍA	59
IX. ANEXOS	

I. INTRODUCCIÓN

La era antibiótica comenzó a partir de 1928 con el descubrimiento de las propiedades antimicrobianas *in vitro* de la penicilina por Alexander Fleming. En 1941 se extiende su uso como antibiótico de elección para la defensa contra infecciones por diferentes tipos de microorganismos (1).

Entre los años 50 y 60 se desarrollaron nuevos antibióticos de amplio espectro para el tratamiento de bacterias gram negativas. Las cuales con el transcurso del tiempo generaron diversos mecanismos de resistencia, principalmente a betalactámicos, debido al uso inadecuado de los mismos (2).

Las enterobacterias en particular, desarrollaron enzimas betalactamasas de espectro ampliado (BLEA) y betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Esto, representó un problema para la correcta terapéutica de diferentes enfermedades debido a los cambios en la susceptibilidad antimicrobiana (2).

Una consecuencia muy importante en la producción de BLEE es la pérdida de eficacia de las cefalosporinas de tercera y cuarta generación, las cuales constituyen la primera línea de tratamiento en infecciones graves. Además se compromete la eficacia clínica de los carbapenémicos ya que conlleva a un incremento en su uso. Los mismos, constituyen la última alternativa terapéutica frente a bacilos gram negativos multirresistentes (3).

Las carbapenemasas, un tipo especial de betalactamasas emergen a finales de los 90. Estas son enzimas capaces de hidrolizar, en dependencia de su tipo, a todos o casi todos los betalactámicos. Además, se asocian a multidrogorresistencia por lo que representan un importante riesgo sanitario en todo el mundo. Esto resalta la necesidad de conocer los perfiles de resistencia de las cepas productoras de carbapenemasas ya que la mayoría se muestran con extremodrogorresistencia (XDR, *por sus siglas en inglés*) o incluso pandrogorresistencia (PDR), es decir, resistencia a todas las drogas efectivas contra las mismas (4).

La rápida expansión de enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) o de los genes que codifican estas enzimas, trajo como consecuencia brotes nosocomiales y situaciones endémicas en varios países de Europa y otros lugares del mundo.

En América Latina hubo una primera alerta epidemiológica por la Organización Mundial de la Salud/Organización Panamericana de la Salud (OMS/OPS), en Julio del 2010. Posteriormente se suscitaron cuatro alertas nuevas por el incremento de esta emergencia en la región (4-6).

Las infecciones por patógenos productores de carbapenemasas se asocian con altas tasas de morbilidad y mortalidad, así como con el incremento de los costos sanitarios. La internación prolongada y el uso de dispositivos médicos como ventilación mecánica y catéteres en pacientes críticos constituyen los principales factores de riesgos para las mismas (7).

Las carbapenemasas de mayor relevancia clínica son KPC (*Klebsiella* Productora de Carbapenemasa) y NDM (New Delhi metalobetalactamasa). Las cuales se asocian con una rápida diseminación de clones hiperepidémicos de manera global. Esto resalta la importancia de un diagnóstico microbiológico rápido para su contención inmediata (8, 9).

Cabe destacar que el Centro de Control de Enfermedades de Estados Unidos (CDC), ubicó a las enterobacterias resistentes a carbapenémicos en el nivel 1 de amenaza, para las que se requiere una acción urgente y agresiva para contenerlas. Entre las principales enterobacterias productoras se citan: *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae* y *Morganella morganii* (9, 10). Por otro lado la OMS ubicó, recientemente, a las EPC entre las primeras en su lista publicada de «patógenos prioritarios» por su resistencia a los antibióticos sobre la cual hay que incentivar la vigilancia epidemiológica e investigación científica por las escasas o nulas opciones terapéuticas para tratar las infecciones producidas por estos (11, 12).

El diagnóstico microbiológico de las carbapenemasas es un desafío en la actualidad ya que pueden solo conferir susceptibilidad disminuida a los carbapenémicos. Los métodos automatizados tienen baja sensibilidad y especificidad y puede que no se detecten si el inóculo es bajo. Como consecuencia se afectaría la verdadera incidencia estimación de patógenos productores, así como del control de epidemias por lo que los métodos moleculares, como la PCR, son imprescindibles para su confirmación y notificación oficial (13).

Los expertos internacionales y las autoridades sanitarias consideran que una acción sanitaria de máxima prioridad es el desarrollo de métodos rápidos para el diagnóstico oportuno y detección de los patrones de resistencia antimicrobiana (RAM). Además, existen otros tipos de carbapenemasas como las de tipo D (OXA-48) que son más difíciles de detectar en los laboratorios. Por tanto, la identificación certera de estas enzimas es de vital importancia para mejorar, tanto la terapia que se ofrece a los pacientes, como el control de la expansión de la resistencia a los antibióticos en los hospitales (9).

Existen pruebas fenotípicas mediante el uso de tabletas combinadas con inhibidores específicos de carbapenemasas que permiten la detección de algunos tipos de ellas, incluyendo las de clase A (KPC), las de clase B metalobetalactamasas (MBL) y las de clase D (OXA 48). Sin embargo, no distinguen entre los tipos de metalobetalactamasas y requieren de un período de incubación de 24 horas. Por otro lado, los ensayos con métodos fenotípicos en algunos casos, no son suficientemente sensibles para detectar las carbapenemasas con expresión de bajo nivel. Los métodos moleculares, son caros y exigen determinadas condiciones de infraestructura y personal capacitado, lo cual limita las posibilidades de un uso más generalizado, principalmente en la red de laboratorios del país (8).

Los métodos inmunocromatográficos, también son de gran utilidad en la actualidad para la detección oportuna de carbapenemasas. Estos están basados en una tecnología de membranas nitrocelulosa con nanopartículas coloidales de oro, las cuales se sensibilizan mediante un anticuerpo monoclonal dirigido contra un epítipo específico de algunos tipos de carbapenemasas como la OXA-48, KPC y NDM.

La emergencia de carbapenemasas en Cuba desde 2010 según el reporte del Laboratorio Nacional de Referencia de Infecciones Asociadas a la Atención Sanitaria (LNR-IAAS) del Instituto “Pedro Kourí” (IPK); impone la necesidad de conocer los tipos que circulan en el país. Además, es imprescindible que la red de laboratorios de microbiología disponga de métodos alternativos y de fácil ejecución que permitan su diagnóstico certero (14).

El método fenotípico de tabletas combinadas KPC-MBL Confirm ID Pack (ROSCO, Dinamarca) y la tira inmunocromatográfica estuche comercial RESIST- 3.0.K.N (CORIS, BioConcept, Bélgica), son métodos que brindan un diagnóstico rápido, para los que se describe elevada especificidad y sensibilidad. Por tanto, se propone la presente investigación con el fin de evaluar el desempeño de los mismos en el diagnóstico de carbapenemasas en aislados cubanos de enterobacterias en nuestras condiciones.

Hipótesis de trabajo: En Cuba, diferentes tipos de carbapenemasas constituyen un mecanismo prevalente de resistencia en Enterobacterias las que varían según especie y servicios hospitalarios donde los diagnosticadores Coris RESIST 3.0.K.N, y el método de tabletas combinadas ROSCO permiten la detección de carbapenemasas de tipo MBL producidas por enterobacterias con un desempeño igual a la PCR en tiempo real. Además, propician antibiotipos multidrogorresistentes.

II. OBJETIVOS

1. Determinar los tipos de carbapenemasas en enterobacterias resistentes a los carbapenémicos causantes de infecciones en hospitales cubanos mediante el método de referencia internacional y su distribución según especies, hospitales y servicios afectados.
2. Evaluar el desempeño del método inmunocromatográfico RESIST 3 O.K.N y el método fenotípico de tabletas combinadas ROSCO para la determinación de carbapenemasas tipo metalobetalactamasas.
3. Determinar los antibiotipos de los aislados productores de carbapenemasas de acuerdo a la clasificación multidrogorresistente, extremodrogorresistente y pandrogorresistente.

III. MARCO TEÓRICO

Familia Enterobacteriaceae

La familia *Enterobacteriaceae* se encuentra conformada por un grupo grande y heterogéneo de bacterias gram negativas, que comprende más de 50 géneros y cientos de especies, pudiéndose diferenciar entre patógenos prioritarios y colonizadores habituales del tracto gastrointestinal. Las especies pertenecientes a esta familia son bacilos o cocobacilos cuyo tamaño oscila entre 0.3 μm por 0.6 – 6 μm . No forman esporas, pueden ser móviles debido a que poseen flagelos peritricos o inmóviles (15).

Desde el punto de vista bioquímico se caracterizan por ser catalasa positiva, oxidasa negativa, reducen los nitratos a nitritos y son capaces de degradar la glucosa y una gran variedad de hidratos de carbono que sirven para su identificación bioquímica a nivel de especies (2).

Las enterobacterias poseen factores de virulencia importantes como la presencia de fimbrias, cápsula y el lipopolisacárido (LPS) de la pared celular, la mayor parte de las mismas son capaces de producir fimbrias o pili que son responsables de la unión a otras bacterias y a células del huésped. Hay especies que producen cápsula de naturaleza polisacárida la cual puede estar rígida o laxa (glucocálix), que evita la activación del sistema de complemento y la fagocitosis (15).

Como se puede apreciar en la figura III.1 la pared celular de las enterobacterias, al igual que en otras bacterias gram negativas, tiene una estructura multilaminar: La membrana interna o citoplasma consiste en una doble capa de fosfolípidos y proteínas que regulan el paso de nutrientes, metabolitos y macromoléculas. La pared celular está constituida por el periplasma que contiene una delgada capa de peptidoglucano dentro del espacio periplásmico con una elevada concentración de proteínas y la membrana externa compleja consiste en otra doble capa de fosfolípidos que incluyen LPS, lipoproteínas fijadas al péptidoglucano, proteínas multimétricas que forman porinas que facilitan el paso de diversas sustancias (incluidos antibióticos betalactámicos) y otras proteínas de membrana externa (16).

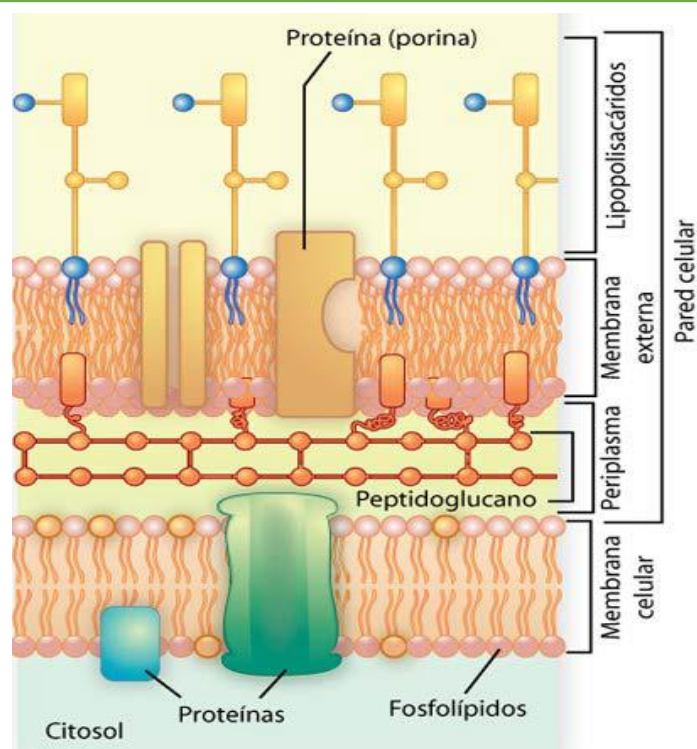


Figura III.1. Estructura de la membrana y pared celular de enterobacterias. Ruiz G, 2016 (15).

El LPS está formado por un oligosacárido con capacidad antigénica conocido como antígeno O y una parte lipídica que constituye un factor de virulencia importante denominado lípido A, o endotoxina (17).

Entre las enterobacterias es frecuente la presencia de elementos genéticos móviles: plásmidos, transposones y prófagos que codifican nuevos antígenos, factores de virulencia, rutas metabólicas alternativas y resistencia a antibióticos. A pesar de que la transferencia de genes cromosómicos (recombinación) es poco habitual entre enterobacterias, la transferencia de elementos genéticos móviles es un fenómeno altamente frecuente tanto entre bacterias de la misma especie como entre géneros diferentes (18).

El género *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Serratia* incluyen las enterobacterias más relevantes según su importancia clínica.

Género *Escherichia*

Características bioquímicas: oxidasa negativo, fermentan glucosa y lactosa, producen gas, no producen ácido sulfhídrico, mótils, indol positivo (excepto *E. vulgaris*), rojo metilo positivo, vogues proskauer negativo, citrato de simmons negativo, ureasa negativa, lisina y ornitina descarboxilasa positivo (19).

Escherichia coli es la especie más comúnmente aislada a nivel clínico responsable de un gran número de enfermedades infecciosas desde enteritis o gastroenteritis hasta la colonización de una variedad de tejidos y órganos, siendo una de las especies gram negativas causantes de sepsis bacteriana debido a la producción de endotoxinas. Cabe destacar que *E. coli* extraintestinal es el agente etiológico causante de la mayor número de ITU (Infección del tracto urinario) a nivel mundial, destaca aquí su importancia y caracterización de la misma (19).

Género *Klebsiella*

Características bioquímicas: oxidada negativo, fermenta glucosa y lactosa, no produce ácido sulfhídrico motilidad negativo, la mayoría son indol negativo (excepto *K. oxytoca*). *K. pneumoniae* es la especie más representativa de este género, responsable de causar neumonía fatal en la mayoría de los casos debido a diversos mecanismos de resistencia que ha adquirido con el pasar del tiempo. En esta especie fue donde se aisló por vez primera una de las carbapenemasas de mayor relevancia en la clínica, la tipo KPC-1 (20).

Entre otros tipos de infecciones causadas por *K. pneumoniae* podemos citar infecciones complicadas del tracto urinario (ITUc), bacteriemia o sepsis, meningitis bacteriana, e infecciones relacionadas con la utilización de material quirúrgico, debido a que se encuentra muy bien adaptada al ambiente nosocomial (21).

Género *Enterobacter*

Características bioquímicas: oxidasa negativo, catalasa positivo, fermentan la glucosa y lactosa, no produce ácido sulfhídrico, motilidad positiva y debido a su gran producción de gas antiguamente era denominado como *Aerobacter*, y no fue hasta 1962, que cambió su denominación a *Enterobacter* por Edwards y Ewing, esquema propuesto en conformidad con la taxonomía del Bergey's Manual (22).

E. cloacae es la especie más representativa en cuanto a los hallazgos en muestras clínicas, se encuentran distribuidos en aguas, suelos, vegetales y forman parte de la flora gastrointestinal. Se asocian con una variedad de infecciones oportunistas que afectan vías urinarias, respiratorias, heridas cutáneas en ocasiones pueden causar septicemia y meningitis (22).

Cabe destacar que el antiguamente denominado *Enterobacter sakazakii*, ahora *Cronobacter sakazakii*, tiene trascendental importancia en casos de meningitis y sepsis neonatal, y una de las características que se emplea para su identificación es la producción de pigmento amarillo a 25°C (19).

Género *Serratia*

Características bioquímicas: oxidasa positiva, fermentan la glucosa, la mayoría no fermentan la lactosa, no produce ácido sulfhídrico, motilidad positiva en muchas de sus especies. Una de sus principales características es la producción de tres enzimas hidrolíticas lipasa, gelatinasa y ADNasa. *Serratia marcescens* es la especie más importante del género *Serratia*, a menudo se asocia a una variedad de infecciones humanas particularmente neumonía y septicemia en pacientes con neoplasias que reciben agentes quimioterapéuticos (23).

Resistencia bacteriana

La resistencia bacteriana es una evidencia sobre la teoría de la evolución natural de las especies planteada por Darwin. Las bacterias desarrollaron diversos mecanismos para hidrolizar y expulsar antibacterianos, así como modificar su metabolismo al ser expuestas a diversos antimicrobianos para su supervivencia y multiplicación. Este fenómeno se conoce como selección natural (24).

La resistencia microbiana es la pérdida de la sensibilidad de un microorganismo a un antimicrobiano al que inicialmente era susceptible. La misma puede ser: cromosómica (transferencia vertical de genes), que se origina por una mutación en el material genético del microorganismo y se transmite a los descendientes o plasmídica (transferencia horizontal de genes) la cual representa el mayor riesgo por la rápida diseminación de genes de resistencia entre distintas especies o incluso entre diferentes géneros bacterianos (4).

Entre los elementos más importantes que se relacionan con la aparición de la resistencia antimicrobiana están: uso indiscriminado de antimicrobianos dado por profilaxis antibiótica inapropiada, terapia antimicrobiana con duración o dosis inadecuada, tratamiento antibiótico en enfermedades no bacterianas, falta de conocimiento en cuanto a los perfiles de sensibilidad de los antimicrobianos a nivel regional y automedicación por parte del paciente (18, 25).

Principales mecanismos de resistencia a los antibióticos en enterobacterias

Resistencia a betalactámicos

En este grupo se incluyen varios subgrupos de antibióticos entre los que se encuentra las penicilinas, cefalosporinas, carbapenemes y monobactámicos que inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana. La resistencia a betalactámicos esta mediada por diversos mecanismos (producción de enzimas, alteraciones en la permeabilidad de la membrana, alteración de las proteínas fijadoras a penicilina (PBP, por sus siglas en inglés) y expresión de bombas de expulsión activa) el más relevante es el enzimático, fundamentalmente por producción de betalactamasas (26).

Betalactamasas

Son un grupo heterogéneo de enzimas de resistencia, estructuralmente son proteínas compuestas por hojas β plegadas y α hélices que hidrolizan el anillo betalactámico e inhiben la acción del antibiótico (27).

Clasificación de las Betalactamasas

La clasificación de las betalactamasas se realizó acorde a: estructura, función, sustrato al que se unen, sustancias que las inhiben, parámetros cinéticos y expresión si están codificadas de manera plasmídica o en el cromosoma (27).

Se mantiene vigente la clasificación según la estructura molecular y la secuencia de aminoácidos de las enzimas de Ambler en 1980 y la clasificación funcional propuesta por Bush-Jacoby-Medeiros en 1995 y actualizada en 2009 (16).

Clasificación molecular de Ambler: Agrupa las betalactamasas en cuatro clases o grupos (A, B, C, D)

1. Serin- β -lactamasas: se encuentran las enzimas de los grupos A, C, D que contienen una serina en su centro activo e hidrolizan penicilinas, oxacilina, cefalosporinas y carbapenémicos.
2. Metallo- β -lactamasas: enzimas pertenecientes al grupo B que tienen como co-factor un ión de Zinc, el cual es indispensable para ejercer su acción; actúan sobre las penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos pero no sobre los monobactámicos (28).

Clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros: Esta clasificación se basa en la similitud funcional de las enzimas en cuatro grupos y el grupo dos está subdividido en 12 subgrupos.

1. Grupo 1: Incluye enzimas de clase C de Ambler que hidrolizan cefalosporinas y no son inhibidas por el ácido clavulánico o tazobactam.
2. Grupo 2: Incluye enzimas de las clases A y D de Ambler que se inhiben por el ácido clavulánico.
3. Grupo 3: Incluye enzimas de clase B de Ambler, que son metalobetalactamasas que requieren de la unión de Zn a su centro activo y que se inhiben por agentes quelantes como el ácido etilendiaminotetraacético EDTA, pero no se inhiben por el ácido clavulánico o tazobactam.
4. Grupo 4: Incluido en la clasificación inicial, pero no aparece en la actualización del año 2009. La mayoría de enzimas incluidas inicialmente en este grupo no están completamente caracterizadas y están clasificadas en grupos anteriores (18).

Antibióticos carbapenémicos

El desarrollo de los carbapenémicos comenzó con el descubrimiento en 1976 por Alberts Shonberg y colaboradores de la tienamicina, estructura química inestable a partir de *Streptomyces catleya*, con un espectro de actividad más amplio que otros betalactámicos. El primero de su tipo fue el imipenem o N-formimidoil tienamicina derivado sintético estable (29).

Estructura Química

Los carbapenémicos son un azobiciclo formado por la condensación de un anillo betalactámico y otro pirrolidínico con un enlace insaturado en posición 2 y 3. Todos tienen en posición 6 un grupo hidroxietileno con configuración trans que protege al anillo betalactámico de muchas serino betalactamasas y en posición 3 un radical carboxilo importante para que el anillo pirrolidínico active al anillo betalactámico (25). El imipenem ilustra la numeración del anillo azobiciclo (Figura III.2).

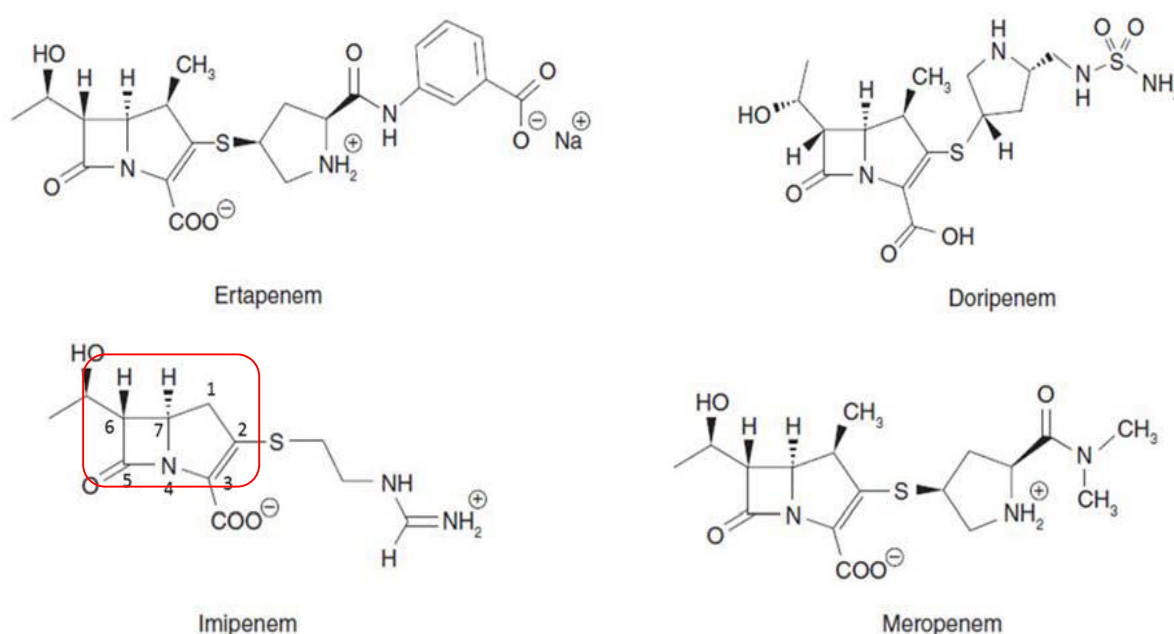


Figura III.2. Estructura química de los carbapenémicos. Solórzano A, 2004 (25).

Mecanismo de acción

Al igual que otros antibióticos betalactámicos, los carbapenémicos inhiben la síntesis de la pared bacteriana. Durante la transpeptidación se unen a residuos de serina del centro activo de las enzimas transpeptidasas, situadas en la cara externa de la membrana citoplasmática, las PBP(30).

Las transpeptidasas actúan en la última fase de la síntesis de la pared bacteriana que no es más que el entrecruzamiento de diferentes cadenas de peptidoglucano mediante enlaces de cadenas peptídicas laterales. Esto empieza con la formación de

III. MARCO TEÓRICO

tetrapéptidos a partir de pentapéptidos con la pérdida de uno de los aminoácidos terminales que están fijados al ácido N-acetilmurámico (31).

El anillo betalactámico presenta similitud estructural con la región del pentapéptido a la que se unen estas enzimas, por lo que es capaz de unirse a ellas de forma covalente y bloquear su actividad (Figura III.3).

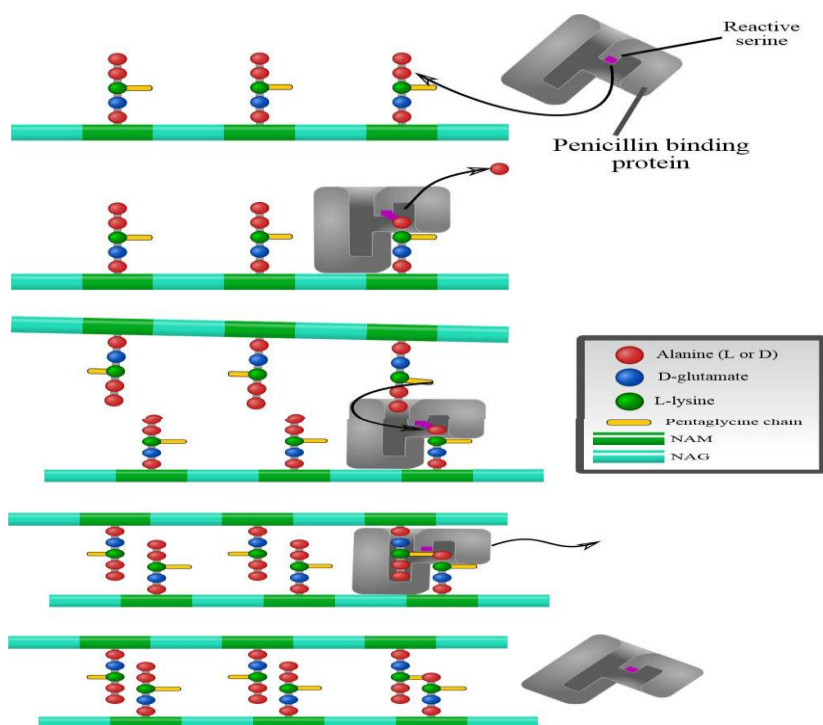


Figura III.3 Mecanismo de acción de los carbapenémicos. Ruiz G, 2016 (15).

Además del mecanismo anteriormente citado los carbapenémicos ejercen su acción activando una autolisina endógena bacteriana que destruye el peptidoglucano y debilita la pared bacteriana (13).

Espectro y actividad antimicrobiana

Los carbapenémicos poseen un espectro de actividad muy amplio debido a su gran capacidad para penetrar a través de la pared de gram negativos por la alta afinidad a las PBP y alta estabilidad frente a betalactamasas significativas, por lo que representan la primera línea en el tratamiento por infecciones bacterianas con diferentes tipos de betalactamasas clínicamente significativas (BLEE y AmpC) y su uso está indicado en el manejo de infecciones graves y nosocomiales (32).

Carbapenemasas

Definición

Las carbapenemasas son enzimas capaces de hidrolizar, dependiendo del tipo a todos o casi todos los antibióticos betalactámicos incluso a los carbapenémicos, la presencia de otros mecanismos de resistencia concomitantes en las bacterias productoras de carbapenemasas es frecuente, originando cepas extremodrogorresistentes e incluso pandrogorresistentes a los antibióticos. Los genes que codifican las carbapenemasas con mayor relevancia clínica y epidemiológica tienen en su mayoría localización plasmídica por lo que se transfieren y expresan con facilidad en diversas especies de bacilos gram negativos, y más frecuentemente entre especies de enterobacterias (24).

Tipos y clasificación de carbapenemasas

Clase A: Serina carbapenemasas de tipo **KPC**, **NMC**, **IMI**, **SME**, **GES**.

Clase B: Metalobetalactamasas (MBLs) **VIM**, **IMP**, **NDM**.

Clase D: Serina Carbapenemasas (Oxacilinasas) **OXA-23**, **-24/40**, **-48**, **-163** (33).

Tabla III.1. Inhibidores específicos para los diferentes tipos de carbapenemasas.

Enzima	Inhibidores				Resistencia a Temocilina
	DPA o EDTA	PBA	DPA+PBA	CLOXA	
MBL (VIM, IMP, NDM)	+	-	-	-	V
KPC	-	+	-	-	V
MBL+KPC	V	V	+	-	V
OXA-48-like	-	-	-	-	+

Leyenda: ácido dipicolínico (DPA), ácido fenil borónico (PBA), cloxacilina (CLOXA), ácido etilendiaminoetracético (EDTA).

Métodos de diagnóstico de carbapenemasas en laboratorios de microbiología

En cuanto a métodos de diagnóstico de EPC resulta un desafío en la actualidad, ya que en muchos casos únicamente se obtienen valores de susceptibilidad disminuída a los carbapenémicos y no de resistencia, las carbapenemasas se presentan con fenotipos de resistencia complejos debido a la expresión variable de las enzimas, los métodos automatizados poseen baja sensibilidad y especificidad, fenómeno de heterorresistencia y la utilización del método de referencia (PCR), resulta muy costoso llevarlo a cabo en todos los laboratorios de microbiología. A continuación se citan diferentes métodos alternativos para la detección de carbapenemasas (34).

Test de Hodge modificado

Se basa en la capacidad de la enzima carbapenemasa para reducir el halo de inhibición de ertapenem o imipenem, teniendo como modelo una *E.coli* multisensible. Entre sus ventajas destacan que es un método económico, de fácil realización, tiene un buen desempeño frente a carbapenemasas de tipo KPC. Entre sus desventajas se puede evidenciar que tiene un mal desempeño frente a metalobetalactamasas, la interpretación es subjetiva (importancia de incluir controles) y el tiempo de incubación es de 18 a 24 horas luego de su realización para el informe de resultados (28).

Carba NP

Se basa en una reacción bioquímica según la hidrólisis del imipenem mediante la utilización de un indicador (rojo fenol), este método requiere colonias aisladas, y puras, la interpretación es rápida a los 30 minutos luego de su realización y posee una buena sensibilidad y especificidad (35).

Test de sinergia de discos

Se basa en la utilización de inhibidores específicos de carbapenemasas como el ácido fenil borónico (PBA) para KPC o ácido etilendiaminotetracético (EDTA) para metalobetalactamasas, ante una prueba positiva se sospecha la presencia de estos tipos de enzimas.

Requiere de la realización de un antibiograma convencional, y la colocación estratégica de los discos a una distancia comprendida entre 15 y 20 mm entre el antibiótico carbapenémico y el disco con el inhibidor, la prueba al ser positiva se evidencia una deformidad en los halos de inhibición en forma de huevo (28).

Inmunocromatografía

Esta metodología se basa en una tecnología de membranas nitrocelulosa con nanopartículas coloidales de oro, las cuales se sensibilizan mediante un anticuerpo monoclonal dirigido contra un epítipo específico de algunos tipos de carbapenemasas, como se explicó anteriormente en el acápite Introducción. La prueba comercial disponible, actualmente, es la de la compañía CORIS, BioConcept, Bélgica como el Resist 3 O.K.N que permite la detección de las carbapenemasas tipo Oxa-48, KPC y NDM y el más reciente Resist 4 O.K.N V que incluye además la tipo VIM (36).

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Las técnicas moleculares permiten la detección de material genético, tanto ácido desoxirribonucleico (ADN), como ácido ribonucleico (ARN). Entre las técnicas moleculares, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es la que ha adquirido un mayor valor diagnóstico, ya que permite una identificación certera del agente infeccioso, además de ser el método de referencia para caracterizar sus genotipos de resistencia.

Existen varios estuches comerciales para la realización de PCR en tiempo real que, permiten obtener la identificación de varios agentes patógenos y de los genes que confieren resistencia a antibióticos directamente a partir de diferentes muestras, lo cual representa una gran ventaja frente a otros métodos. Podemos citar el sistema Verigene (Nanosphere) se aplica a partir de frascos de hemocultivo crecidos. El sistema FilmArray Blood Culture Identificación Panel (BioFire Diagnostics) también se aplica a partir del frasco de hemocultivo crecido (37).

Microarrays

Esta metodología se basa en la detección, mediante un análisis de imágenes, de la hibridación de una molécula diana a una sonda específica inmovilizada en un soporte sólido. Los microarrays detectan un gran número de genes de resistencia en un mismo ensayo dado que estas sondas, que normalmente son oligonucleótidos, están pegadas a una distancia muy corta (37).

Espectrometría de masas MALDI-TOF

Este sistema proporciona, mediante un análisis de proteínas, la identificación de bacterias, levaduras y hongos filamentosos en minutos. En cuanto al antibiograma, el sistema MALDI-TOF predice en menos de 3 horas si las bacterias producen enzimas que hidrolizan los antibióticos, como por ejemplo carbapenemasas y BLEE. Para ello, los microorganismos son incubados durante un tiempo con el antibiótico. Se realiza una centrifugación y el sobrenadante obtenido se analiza mediante MALDI-TOF. Si el microorganismo posee la enzima que degrada el antibiótico se observará la desaparición del pico correspondiente al antibiótico y la aparición de nuevos picos que corresponden a los metabolitos resultantes de la rotura del antibiótico. En caso de que la bacteria no hidrolice el antibiótico únicamente se observará el pico correspondiente al antibiótico (37).

Epidemiología de las carbapenemasas

Actualmente, la diseminación de enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) ha ocurrido en forma alarmante entre países y continentes por lo que representa uno de los problemas de salud más relevantes. En algunas áreas excede la capacidad de manejo de los sistemas sanitarios y alcanza proporciones epidémicas, sin embargo no se comporta de igual manera para todas las enzimas. Los genes *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}* y *bla_{OXA-48}* son los que tienen una mayor capacidad de diseminación. Estas se extienden, principalmente, de forma clonal en el caso de *K.pneumoniae* productora de KPC desde el epicentro inicial en Carolina del Norte a expensas de la secuencia tipo ST258 (8, 38). En el caso de las enzimas NDM y OXA-48 se diseminaron por clones con una alta capacidad de transmisión; no obstante la transmisión horizontal simultánea juega un papel fundamental.

Los reservorios más importantes son los individuos colonizados o infectados procedentes de áreas o centros epidémicos. Por esta razón se necesita un esfuerzo a nivel nacional e internacional para controlar la diseminación de estos patógenos multirresistentes (39).

Las betalactamasas son el principal mecanismo de resistencia en bacilos gram negativos y particularmente en enterobacterias y bacilos gram negativos no fermentadores (BNF). El mayor problema se da a nivel nosocomial donde las cepas se transmiten de paciente a paciente y las enzimas de microorganismo a microorganismo (40, 41).

Carbapenemasas clase A

Las carbapenemasas tienen distribución mundial, el primer reporte fue en Carolina del Norte en 1996 denominada KPC-1 debido a que se detectó en una cepa de *K. pneumoniae*, codificada por el gen *bla_{KPC}*. Desde entonces se detectan variantes de esta enzima a nivel mundial (KPC-1/2 a KPC-11). La naturaleza móvil del elemento genético codificador de KPC Tn4401, que es de naturaleza plasmídica, contribuye a la propagación de esta enzima que actualmente se reporta en numerosas bacterias y es un serio problema de salud global (42).

Los genes *bla* se encuentran en plásmidos largos que varían en el tamaño y estructura. Estos, acarrean generalmente resistencia a aminoglucósidos y se asocian con otros genes de betalactamasas como el gen *bla_{CTX-M-15}*. Se reportan hasta 7 tipos de betalactamasas encontradas asociadas con *bla_{KPC}* en un único aislamiento de *K. pneumoniae* (14).

Sin embargo, la diseminación de cepas parece ser más importante que la diseminación de plásmidos como lo evidencia el hecho que del 70% de cepas recolectadas por el CDC de EEUU, al igual que los aislamientos en Grecia, Israel, Canadá, Noruega, Brasil, y Argentina son la misma clona ST258, clon hiper-epidémico de *K. pneumoniae* productora de KPC-2 (2).

Se reporta *K. pneumoniae* productora de KPC en países Europeos como España, Francia, Alemania, Países Bajos, Reino Unido, Irlanda, Bélgica, Suiza, y Finlandia, y en muchos países de Asia y la región del Pacífico incluyendo la India, Corea del Sur y Australia (42).

En varios países de África como Sur África, Argelia, Egipto también se reportan casos de aislamientos productores de KPC. En Asia y la región del pacífico se reporta en China, Japón, Korea del Sur, Taiwan, La India, y Australia (43).

En América del Sur se reportó inicialmente en *Klebsiella pneumoniae* en Colombia 2006 (44) y subsecuentemente en otras especies de enterobacterias y en varios países como Argentina, Ecuador, Brasil y Uruguay. En Cuba el primer reporte de *Klebsiella pneumoniae* productora de KPC fue en el año 2010 (45, 46).

Carbapenemasas clase B

La clase B de carbapenemasas puede hidrolizar prácticamente a todos los betalactámicos excepto monobactams (aztreonam), se identifican de manera mayoritaria en enterobacterias e incluyen las de tipo VIM, IMP, NDM (New Delhi Metalobetabalactamasa). Estas últimas debido a su rápida diseminación tienen mayor relevancia, el primer aislamiento se obtuvo de un paciente sueco que fue ingresado en un hospital en New Delhi la India en 2008 y luego se produjo su dispersión a nivel mundial. En la actualidad existen más de 15 variantes de NDM la mayoría originadas en Asia (47).

Desde entonces el subcontinente indio que se considera como una zona endémica de *K. pneumoniae* productora NDM, principalmente, en La India, Pakistán, Bangladesh, ocurrió diseminación a diversos continentes como a Las Américas con reportes de casos en Estados Unidos, Canadá, Colombia, Perú Guatemala, Cuba. En el continente Europeo se ha visto casos en España, Francia, Grecia, El Reino Unido, Suiza. En África podemos destacar Sur África, Arabia Saudita, Oman, Emiratos Árabes Unidos. En Asia en países como Japón, China, Korea del Sur (14, 48).

En relación a las variantes de NDM en la mayoría de países donde fue detectada el tipo NDM-1 es la de mayor incidencia lo que demuestra la rápida diseminación de este tipo de carbapemasa debido a su origen plasmídico (42).

En cuanto al tipo IMP, fue la primera carbapenemasa que se identificó, el primer reporte se realizó en un aislado de *Pseudomona aeruginosa* en Japón 1988 y en la actualidad se conocen 58 variantes las cuales se encuentran diseminadas a nivel mundial, y no fue reportada en América latina hasta 2003 en Brazil, Argentina 2005,

Costa Rica 2005, Puerto Rico 2006, y casos esporádicos en Perú, Colombia y Venezuela (49).

En lo referente a la carbapenemasa de tipo VIM en la actualidad se conocen 52 variantes, de los cuales la VIM-2 es la que presento una mayor diseminación a nivel global, a pesar de que sus primeros hallazgos fueron realizados en *P. aeruginosa* en Verona Italia en 1997, en América latina se realizó el primer reporte en Chile, Argentina y Venezuela en 2002, Colombia 2004, Brazil 2005, Uruguay 2011, Perú 2013 (49).

Carbapenemasas clase D

Betalactamasas de clase D denominadas también oxacilinasas debido a su capacidad y afinidad para hidrolizar isoxazolilpenicilinas (oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina) mucho más rápido que las bencilpenicilinas. Actualmente hay más de 400 variantes de betalactamasas clase D, pero que recientemente se reclasificaron en 12 subgrupos (OXA-23, OXA-24/40, OXA-48, OXA-58, OXA-134, OXA-143, OXA-211, OXA-213, OXA-214, OXA-229, y OXA-235). Entre estos solo algunos subgrupos se reportan en enterobacterias, la de mayor prevalencia es OXA-48 la cual fue identificada, por vez primera, en 2003 en Turquía, y desde entonces se notifican 10 variantes de *bla*_{OXA-48} (50).

Turquía representa un país endémico de OXA-48, desde el 2003 se informan casos esporádicos en Marruecos, Egipto, la India. En Europa también se reportaron casos en Francia, España, Italia, Bélgica, Países Bajos, El Reino Unido, Alemania, Suiza. En América del sur son pocos los países que notifican aislamientos de este tipo pero se ha visto casos aislados en Argentina. Cabe destacar que particularmente en países como España y Francia el tipo de carbapenemasas con mayor incidencia con un 78% es OXA-48 (42).

Impacto clínico de la incidencia y aumento de las carbapenemasas

Las infecciones causadas por EPC no muestran especificidad por un órgano o tejido; sin embargo, factores de riesgo como hospitalización prolongada, estadía en unidades de cuidados intensivos, pacientes inmunodeprimidos, dispositivos invasores, terapia antimicrobiana previa, recepción de trasplantes y ventilación mecánica, han sido asociados a la adquisición o infección con las mismas (24).

III. MARCO TEÓRICO

Estas se asocian a una elevada morbilidad, este problema es debido principalmente, a las escasas opciones terapéuticas frente a estas infecciones, limitadas a la colistina, la tigeciclina y nuevos antibióticos que fueron aprobados por la FDA en años recientes como los diaza-biciclo-octanos (avibactam y relebactam) que corresponden a una nueva generación de inhibidores de betalactamasas no betalactámicos, capaces de inactivar muchas de las betalactamasas clase C y A (incluyendo KPC), pero no las de clase B.

La colistina es un lipopéptido cíclico, perteneciente al grupo de las polimixinas, es un antimicrobiano bactericida cuyo sitio blanco es el lípido A del lipopolisacárido. Lamentablemente, aún existe mucho por conocer en relación a su dosificación, farmacocinética y metodologías a emplear para el estudio de susceptibilidad. Su principal limitación es la nefrotoxicidad que, en promedio, alcanza a 30%. Además, existe una creciente descripción de resistencia por mecanismos cromosomales y también plasmídicos, que pueden limitar el éxito y aplicación de esta polimixina, considerada la última opción terapéutica sobre bacilos gram negativos extremodrogoresistentes (XDR) (22).

Tigeciclina es un antimicrobiano bacteriostático, perteneciente al grupo de las glicilciclinas. A pesar de su amplio espectro antibacteriano, su uso se encuentra aprobado sólo para el tratamiento de infecciones complicadas de piel y tejidos blandos, neumonía adquirida en la comunidad y de infecciones intrabdominales complicadas. Su utilización en bacteriemias es controversial por la baja concentración plasmática alcanzada tras administrar dosis habituales, y su baja excreción urinaria limita su uso en infecciones del tracto urinario (ITU) (51).

Tratamiento en Enterobacterias productoras de Carbapenemasas

En los últimos años se desarrollan muy pocos antimicrobianos para el tratamiento de infecciones por bacilos gram negativos lo que limita las opciones terapéuticas. El principal problema, actualmente, radica en la diseminación incontrolada de genes que codifican la resistencia a carbapenémicos, una de las escasas opciones terapéuticas frente a bacilos gram negativos multirresistentes, fundamentalmente en enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y bacilos no fermentadores resistentes a penicilinas y cefalosporinas con la aparición

III. MARCO TEÓRICO

de serincarbapenemasas (KPC, OXA); y metalobetalactamasas, (VIM, IMP, NDM), que son las de mayor incidencia a nivel mundial (52, 53).

Las opciones terapéuticas, son muy limitadas y no siempre eficaces, ya que solo demuestran sensibilidad *in vitro* a antibióticos como la colistina, la tigeciclina, la fosfomicina o la amikacina (54).

Cabe destacar la importancia de la utilización de terapia combinada, así se obtendrá una menor tasa de fracaso terapéutico que en monoterapia. Las combinaciones de antibióticos más eficaces son aquellas que incluyen un antibiótico carbapenémico en combinación con uno de las drogas anteriormente citadas (51, 55). Es muy importante conocer la concentración inhibitoria mínima (CIM por sus siglas en inglés), del carbapenémico ya que si la CIM es ≤ 16 ug/ml, aun son una opción terapéutica en dosis altas por infusión continua, junto con otra droga que haya demostrado su efectividad *in vitro* (56).

Existen nuevos antibióticos que fueron aprobados por la FDA en años recientes como: ceftolozano-tazobactam (2014), este es una buena opción terapéutica en bacterias resistentes a carbapenémicos pero no productoras de carbapenemasas, especialmente activo frente a *Pseudomona* spp multirresistente. Por otra parte ceftazidima-avibactam (2015) y meropenem-vaborbactam (2017) representan un recurso muy importante frente a infecciones complicadas del tracto urinario (ITUc), además, estos dos últimos antimicrobianos son activos contra carbapenemasas de tipo KPC, mas no frente a metalobetalactamasas (57-59).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.1. DISEÑO METODOLÓGICO

Se realizó un estudio observacional descriptivo ambispectivo en el período enero 2015- diciembre 2018. Este incluyó, de manera retrospectiva, 22 aislados clínicos de enterobacterias resistentes a carbapenémicos (dos *E. coli*, 18 *K.pneumoniae*, una *K. terrigena*, una *M. morganii*.), que forman parte de la colección de cultivo del LNR-IAAS del IPK identificadas entre enero 2015 a diciembre 2017. Además, de forma prospectiva se incluyeron 78 aislados de enterobacterias resistentes a carbapenémicos provenientes de muestras clínicas de 11 hospitales distribuidos en ocho provincias del país (La Habana, Camagüey, Cienfuegos, Guantánamo, Matanzas, Pinar del Río, Sancti Spíritus, Santiago de Cuba), que arribaron al LNR-IAAS, como parte de la vigilancia nacional durante el período 1ro de enero al 31 de diciembre de 2018 para un tamaño muestral (n=100).

De manera estratégica, con fines de confidencialidad de los resultados de cada hospital se codificaron los mismos del 1 al 11 (Tabla IV.1).

Tabla IV.1. Codificación estratégica de los hospitales participantes en el estudio. Instituto “Pedro Kourí”, 2015-2018

HOSPITAL	CÓDIGO
Hermanos Ameijeiras	1
Camilo Cienfuegos	2
Saturnino Lora	3
Instituto “Pedro Kourí”	4
Cárdenas	5
Manuel Ascunce	6
Abel Santamaria	7
Infantil del Sur	8
Dr. Gustavo Aldereguía Líma	9
Pediátrico Pepe Portilla	10
Octavio de la Concepción	11

IV.2. Definición y clasificación de las variables

1. Susceptibilidad antimicrobiana: cualitativa nominal politómica

Definición: traducción de la respuesta *in vitro* de un microorganismo a uno o varios antimicrobianos, como factor predictivo de eficacia clínica.

Escala de clasificación

- *Sensible*: cuando un aislamiento bacteriano es inhibido *in vitro* por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad con el éxito terapéutico.
- *Intermedia*: cuando un aislamiento bacteriano es inhibido *in vitro* por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a un efecto terapéutico incierto.
- *Resistente*: cuando un aislamiento bacteriano es inhibido *in vitro* por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad de fracaso terapéutico.

Medida de resumen: frecuencia absoluta y relativa

2. Servicio médico: cualitativa nominal politómica

Definición: prestación médica del hospital que brinda asistencia sanitaria especializada.

Escala de clasificación: Gastroenterología, Medicina interna (Med.Interna), Trasplante, Neurología, Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), Urología, Litotricia y Otros (angiología, geriatría, hematología, misceláneos, nefrología, neonatología, ortopedia, puerperio, reumatología).

Medida de resumen: frecuencia absoluta y relativa.

3. Tipo de muestra: cualitativa nominal politómica

Definición: cualquier material biológico de origen humano que se obtiene del paciente, el tipo de muestra se clasifica en dependencia del lugar anatómico de donde se recolecta.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Escala de clasificación: Secreción endotraqueal (SET), Punta de catéter (P/C), Exudado de piel (Ex. Piel), Hemocultivo, Herida quirúrgica (Hda. Quirúrgica), Líquido peritoneal (Liqu. Peritoneal), Urocultivo, Otros (aspirado broncoalveolar, exudado vaginal, hematuria subdural, lesión).

Medida de resumen: frecuencias absoluta y relativa.

4. Categorización de la resistencia en multidrogorresistencia (MDR), extremadrogorresistencia (XDR) y pandrogorresistencia (PDR): cualitativa nominal politómica

Definición: terminología acorde al Consenso Latinoamericano para definición de las categorías MDR, XDR, y PDR en bacilos gram negativos Re LAVRA 2019 (60).

Escala de clasificación:

Tabla IV.2. Antibióticos aprobados para la definición de multidrogorresistencia, extremadrogorresistencia y pandrogorresistencia en enterobacterias

Definición	Grupos de antibióticos
MDR Resistente a 3 de los 12 grupos de antibióticos	Amoxicilina ácido clavulánico, o ampicilina sulbactam Piperacilina tazobactam Ceftazidima, o cefotaxima/ceftriaxona, o cefepime
XDR Resistente a 10/11 de los 12 grupos de antibióticos	Imipenem, o meropenem Aztreonam Gentamicina Amikacina
PDR Resistente a 12 de los 12 grupos de antibióticos	Ciprofloxacina Trimetoprima sulfametoxazol Fosfomicina Tigeciclina Colistina

Leyenda: multidrogorresistente (MDR), extremadrogorresistente (XDR), pandrogorresistente (PDR).

Medida de resumen: frecuencia relativa.

5. Producción de carbapenemasa KPC o metalobetalactamasas por el método fenotípico de tabletas combinadas: Cualitativa nominal dicotómica.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Definición: las carbapenemasas son enzimas capaces de hidrolizar, dependiendo del tipo a todos o casi todos los antibióticos betalactámicos incluso a los carbapenémicos.

Escala de clasificación: productora y no productora.

Medida de resumen: Frecuencias absolutas y relativas.

6. Producción de carbapenemasa KPC o metalobetalactamasas por el método inmunocromatográfico: Cualitativa nominal politómica

Definición: las carbapenemasas son enzimas capaces de hidrolizar, dependiendo del tipo a todos o casi todos los antibióticos betalactámicos incluso a los carbapenémicos.

Escala de clasificación: KPC, OXA-48, NDM

Medida de resumen: Frecuencias absolutas y relativas.

7. Producción de carbapenemasa KPC o metalobetalactamasas por el método genotípico (PCR): Cualitativa nominal politómica

Definición: las carbapenemasas son enzimas capaces de hidrolizar, dependiendo del tipo a todos o casi todos los antibióticos betalactámicos incluso a los carbapenémicos.

Escala de clasificación: KPC, OXA-48, NDM, VIM, IMP.

Medida de resumen: Frecuencias absolutas y relativas.

IV.3. Criterios de inclusión

Se incluyeron del estudio aquellos aislados confirmados como enterobacterias resistentes a carbapenémicos.

IV.4. Criterios de exclusión

Se excluyeron del estudio aquellos aislados: no viables, contaminados, no confirmados como enterobacterias resistentes a carbapenémicos y/o las que no disponían de toda la información contenida en el modelo de recolección de datos.

IV.5. Técnicas y procedimientos de laboratorio

IV.5.1. Conservación de aislamientos

Todos los aislados objeto de estudio, una vez registrados en la base de datos del LNR-IAAS se sembraron en agar McConkey (Biolife) con incubación a 37 °C durante 18 a 24 horas para su conservación a -70 °C (REVCO, EE.UU) en caldo Triptona Soja (CTS) (Biolife, Italia) con glicerol (DIFCO, Alemania) al 15% hasta su posterior caracterización microbiológica.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.5.2. Identificación de especies

Se corroboró la identificación de especies de los aislados retrospectivos, los cuales se tomaron de la base de datos creada al efecto de la vigilancia nacional de la resistencia de enterobacterias del LNR-IAAS. Se utilizaron los mismos procedimientos para la identificación de los aislados prospectivos.

El material biológico se transfirió del medio de conservación por estrías a placas de Petri (100 x 13 mm) preparadas con agar McConkey (Biolife, Italia). Posteriormente se incubaron a 37 °C (Incubadora Memmert, Alemania) durante 18 a 24 horas.

Una vez corroborada la pureza del cultivo se inició la identificación de especies por métodos convencionales, se realizó la tinción de Gram (Laboratorio de Productos Biológicos Finlay, Cuba) para la observación de sus características tintoriales, morfológicas y agrupación, prueba de oxidasa (BDH, Inglaterra) y Kliger (Biolife, Italia). La identificación se completó mediante sistema semiautomatizado API (BioMérieux, Francia), siguiendo las instrucciones del fabricante, se utilizó sistema API 20 E para la identificación de enterobacterias.

Método Semiautomatizado API

Se preparó un inóculo en un tubo con 5 mL de solución salina al 0,85% y se ajustó la suspensión bacteriana hasta alcanzar una densidad óptica (Densimat, bioMérieux, Francia) correspondiente a la escala 0,5 de McFarland (10^8 - 10^9 UFC). Se inocularon las galerías API (BioMérieux, Francia) compuestas por cúpulas que contenían un medio reactivo en forma deshidratada, cada una correspondiente a las pruebas bioquímicas a realizar y se incubaron durante 24 horas en aerobiosis a 37°C. La lectura se realizó según las tablas recomendadas por el fabricante y para la interpretación de los resultados se empleó el software Apiweb TM, en algunas ocasiones para la completa identificación fueron necesarias pruebas complementarias sugeridas por el software Apiweb TM.

IV.5.3. Confirmación de la resistencia a carbapenémicos en aislados de enterobacterias, objetos de estudio

Se aplicó el método de difusión en agar o Bauer-Kirby haciendo uso del discos de imipenem 10 µg y meropenem 10 µg.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

A partir de un cultivo puro de 18 a 24 horas de crecimiento en agar McConkey, se preparó un inóculo en 3 mL de solución salina estéril, ajustando la suspensión bacteriana hasta alcanzar una densidad óptica correspondiente a la escala 0,5 de McFarland (10^8 - 10^9 UFC). Se sembraron las placas previamente preparadas con agar Mueller-Hinton con un hisopo estéril sobre la superficie del medio en tres direcciones. Luego de cinco minutos se depositaron los discos con la ayuda de una pinza estéril, presionándolos ligeramente sobre la superficie del agar.

Las placas se incubaron a 37 °C en aerobiosis durante 18 a 24 horas. Al día siguiente se midieron los halos de inhibición alrededor de cada disco, obteniendo la categoría de sensible, resistente e intermedio. La interpretación se realizó teniendo en cuenta puntos de corte del *CLSI* de 2018.

Se utilizaron las cepas controles:

- *E. coli* ATCC 25922
- *K. pneumoniae* ATCC 35657
- *P. aeruginosa* ATCC 27853

IV.5.4. Determinación de los tipos de carbapenemasas en enterobacterias resistentes a los carbapenémicos (n=100)

Los tipos de carbapenemasas se determinaron mediante la PCR en tiempo real, previamente implementada en el LNR-IAAS, como técnica de referencia internacional. Se utilizaron los estuches comerciales MDR MBL (VIM, IMP, NDM) Real-TM y MDR KPC/OXA 48 Real-TM (Sacace Biotechnologies, Italy) para la detección de los genes *bla*_{KPC}; *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM} y *bla*_{IMP} de n=100 cepas resistentes a carbapenémicos que forman parte del estudio.

Se procedió con la extracción del ADN de las cepas controles positivos de KPC y NDM a partir de los aislados *K. pneumoniae* ATCC BAA - 1705 – MHT y *Acinetobacter soli* DQ244, respectivamente mediante el estuche comercial QIAamp DNA Mini Handbook (Quiagen, Holanda), según el siguiente esquema:

a) Extracción de ADN genómico a partir de cultivo bacteriano

1. Pipetear 1 mL de cultivo bacteriano o suspender una colonia en 1 mL de solución salina estéril en un vial de 1.5 mL y centrifugar por 15 min a 14500rpm (Descartar el sobrenadante).
2. Añadir 180 µL de buffer ATL.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

3. Agregar 20 µL de proteinasa K, mezclar en vortex, incubar a 56 °C durante una hora. Mezclar en vortex ocasionalmente entre el período de incubación.
4. Centrifugar brevemente para remover residuos de la tapa del vial.
5. Añadir 200 µl de buffer AL. Mezclar con vortex por 15 segundos e incubar a 70 °C por 10 min. Centrifugar brevemente.
6. Añadir 200 µL de etanol (96-100%) a la muestra y mezclar en vortex por 15 segundos. Centrifugar brevemente.
7. Aplicar la mezcla del paso 6 incluyendo el precipitado en la columna colocada en un tubo colector. Cerrar la tapa y centrifugar a 8000 rpm por 1 min. Colocar la columna en un nuevo tubo colector descartando el anterior.
8. Abrir cuidadosamente la columna y adicionar 500 µl de buffer AW1. Cierre la tapa y centrifugar a 8000 rpm por 1 min. Coloque la columna en otro tubo colector y descarte el anterior.
9. Abrir cuidadosamente la columna y adicionar 500 µL de buffer AW2 y centrifugar a 14000 rpm por 3 min.
10. Colocar la columna en otro nuevo tubo colector eliminando el anterior y centrifugar por 1 min a 14000 rpm.
11. Colocar la columna en un vial y descarte el tubo colector. Abra la columna y adicione 100 µl de buffer AE o agua destilada estéril.
12. Incubar a temperatura ambiente 1 min y centrifugar a 8000 rpm por 1 min.
13. Repetir el paso 11.

b) Evaluación de la concentración, calidad e integridad del ADN purificado

Para calcular la concentración y evaluar la calidad e integridad del ADN se utilizaron técnicas de espectrofotometría mediante el uso del QIAxpert (QIAGEN, Alemania) según las instrucciones del fabricante.

c) Preparación de la mezcla de reacción para los estuches comerciales MDR KPC/OXA 48 Real-TM, y MDR MBL (VIM, IMP, NDM) Real-TM

1. Antes de empezar dar un vortex a todos los componentes del kit, asegurarse que no se formen gotas en las tapas de los tubos.
2. Tomar el número requerido de tubos para amplificación de PCR teniendo en cuenta las muestras y controles positivo, negativo y control negativo de amplificación.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

3. Para preparar la mezcla de reacción con:
 - 10 µl de PCR-mix-FRT KPC/OXA-48, o 10 µl de PCR-mix-FRT MBL.
 - 5 µl de RT-PCR-mix-2.
 - 0.5 µl de Taq Polimerasa.
4. Realizar los cálculos para el número total de muestras y realizar la mix en un vial estéril, dar un vortex una vez finalizada la mezcla y asegurarse que no se formen gotas en la tapa del vial.
5. Agregar 15 µl de la mezcla de reacción por cada tubo para PCR.
6. Agregar 10 µl de ADN de las muestras por cada tubo PCR.
7. **C-** Agregar 10 µl of ADN de las muestras extraídas del control negativo (C-) control negativo para PRC.
8. **C+** Agregar 10 µl of Pos 2 KPC/OXA-48 (C+) control positivo para la PCR.
9. **NCA** Agregar 10 µl de DNA-buffer (NCA) Control negativo de amplificación.
10. Volumen final de reacción 25 µl.

d) Programación para el desarrollo de la PCR-TR (Equipo *Rotor-gene Q*)

MDR MBL (VIM, IMP, NDM) Real-TM

Programación del Equipo:			
Temperatura			
Paso	°C	Tiempo	Ciclos
1	95	15 min	1
2	95	5 seg	5
	60	20 seg	
	72	15 seg	
3	95	5 seg	40
	60	20 seg Detección de la señal fluorescente	
	72	15 seg	

La señal fluorescente es detectada en los canales **FAM, JOE, ROX y Cy5**:

Canal	Ganancia de Optimización	Threshold	Otros ajustes/ Outlier Removal	Slope Correct
FAM/Green	5FI - 10FI	0,1	10%	ON
JOE/Yellow	4FI - 8 FI	0,1	10%	ON
ROX/Orange	4FI - 8 FI	0,1	10%	ON
Cy5/Red	4FI - 8 FI	0,1	10%	ON

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Análisis de datos:

Canal	FAM	HEX	ROX	Cy5
MDR MBL (VIM,IMP,NDM) Real-TM PCR kit	gene MBL group VIM	gene MBL group IMP	IC	gene MBL group NDM

Lectura de los resultados:

Los resultados son interpretados como positivos por el software del PCR si cruzan o no la línea threshold por la curva de fluorescencia emitida.

Canales				
	FAM/ Green VIM	JOE/ Yellow IMP	ROX/ Orange IC	Cy5/Red NDM
NCA	-	-	-	-
NCE	-	-	<30	-
Pos C+	<30	<30	-	<30
Clinical	<38	<38	<38	<38

- Muestras que contengan genes MBL grupo **VIM** si el valor de Ct detectado en el canal **FAM** es inferior que 38 ciclos.
- Muestras que contengan genes MBL grupo **IMP** si el valor de Ct detectado en el canal **JOE/HEX** es inferior que 38 ciclos.
- Muestras que contengan genes MBL grupo **NDM** si el valor de Ct detectado en el canal **Cy5** es inferior que 38 ciclos.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

e) Programación para el desarrollo de la PCR-TR (Equipo *Rotor-gene Q*)

MDR KPC/OXA 48 Real-TM

Programación del Equipo:			
Temperatura			
Paso	°C	Tiempo	Ciclos
1	95	15 min	1
2	95	5seg	5
	60	20seg	
	72	15seg	
3	95	5seg	40
	60	20seg Detección de la señal fluorescente	
	72	15 s	

La señal fluorescente es detectada en los canales **FAM, JOE, ROX**:

Canal	Calibrar ganancia de optimización.	Threshold	Otros ajustes/	Slope Correct
			Outlier Removal	
FAM/Green	5FI - 10FI	0,1	10%	ON
JOE/Yellow	4FI – 8 FI	0,1	10%	ON
ROX/Orange	4FI – 8 FI	0,1	10%	ON

Análisis de datos:

Channel	FAM	HEX	ROX
MDR KPC/OXA Real-TM PCR kit	group KPC	group OXA-48	IC

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Lectura de los resultados:

Los resultados son interpretados como positivos por el software del PCR si cruzan o no la línea threshold por la curva de fluorescencia emitida.

	Canales		
	FAM/ Green KPC	JOE/ Yellow OXA-48	ROX/ Orange IC
NCA	-	-	-
NCE	-	-	<30
Pos C+	<30	<30	-
Clinical	<38	<38	<38

- Muestras que contengan genes del grupo **KPC** si el valor de Ct detectado en el canal **FAM** es inferior que 38 ciclos.
- Muestras que contengan genes del grupo **OXA-48** si el valor de Ct detectado en el canal **JOE/HEX** es inferior que 38 ciclos.

IV.5.5. Descripción de la distribución de los aislados productores de carbapenemasas según hospitales y servicios afectados (n=71)

Se recogieron datos clínico-epidemiológicos de los pacientes infectados por enterobacterias productoras de carbapenemasas, a partir del modelo de recolección de datos diseñado para la vigilancia nacional de pacientes infectados con bacilos gram negativos portadores de fenotipos emergentes de resistencia (Anexo 1). Esto permitió hacer el análisis clínico epidemiológico de los aislados.

IV.5.6. Aplicación del método de tabletas combinadas ROSCO para la detección fenotípica de carbapenemasas, de cepas resistentes a carbapenémicos que forman parte del estudio (n=100)

Se aplicó a todas las cepas de enterobacterias resistentes a carbapenémicos, objeto de estudio el método comercial de tabletas combinadas KPC-MBL Confirm ID Pack (ROSCO, Dinamarca). Para lo cual se siguieron las instrucciones del fabricante.

Metodología

A partir de un cultivo puro de 18 a 24 horas de crecimiento en agar McConkey, se preparó un inóculo en 3 mL de solución salina estéril, ajustando la suspensión bacteriana hasta alcanzar una densidad óptica (Densimat, bioMérieux, Francia)

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

correspondiente a la escala 0,5 de McFarland (10^8 - 10^9 UFC). Se sembraron las placas previamente preparadas con agar Müeller Hinton con un hisopo sobre la superficie del medio en tres direcciones. Luego de cinco minutos se depositaron las tabletas con la ayuda de una pinza estéril, presionándolos ligeramente sobre la superficie del agar. Las placas se incubaron a 37 °C en aerobiosis durante 18 a 24 horas.

Se usó como cepa control positivo la cepa *Acinetobacter baumannii* DQ244 de la colección de cultivo del LNR-IAAS y como cepa control negativo *K. pneumoniae* ATCC BAA - 1706 – MHT.

Interpretación de los resultados

Comparar la zona de inhibición de la tableta de Meropenem 10 µg con las zonas de inhibición de cada una de las tabletas de Meropenem + inhibidores.

- Mida la zona de inhibición alrededor de Meropenem 10 µg (MRP10) y Meropenem + DPA (MRP-DPA): Si la zona alrededor de MRP-DPA es ≥ 5 mm en comparación con el disco único, el organismo es positivo para la actividad de metalobetalactamasa.
- Mida la zona de inhibición alrededor de Meropenem 10 µg (MRP10) y Meropenem + PBO (MRP-PBO): Si la zona alrededor de MRP-PBO es ≥ 4 mm en comparación con el disco único, el organismo es positivo para la producción de KPC.
- Mida la zona de inhibición alrededor de Meropenem 10 µg (MRP10) y Meropenem + CX (MRP-CX): Si la zona alrededor de MRP-CX es ≥ 4 mm en comparación con el disco único, el organismo es positivo para la producción de AmpC.
- Mirar alrededor de la tableta de Temocilina 30 µg, la ausencia de halo de inhibición se interpreta como sospecha de producción de OXA – 48.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.5.7. Aplicación del método inmunocromatográfico RESIST- 3.0.K.N para la detección de carbapenemasas, de cepas resistentes a carbapenémicos que forman parte del estudio (n=100)

Se aplicó el estuche comercial RESIST- 3.0.K.N (CORIS, BioConcept, Bélgica) acorde a las instrucciones del fabricante a todas las cepas de enterobacterias resistentes, objeto de estudio.

Metodología:

1. Se preparó un tubo semi-rígido y añadió 10 gotas de solución amortiguadora de LY-A en el tubo.
2. Se realizó el inóculo bacteriano tocando una colonia e introducir hasta el fondo del tubo semi-rígido que contiene la solución amortiguadora.
3. Se mezcló hasta que la solución adquiriera una consistencia homogénea.
4. Se insertó el cuentagotas en el tubo semi-rígido.
5. Se añadió lentamente 3 gotas de la muestra diluida en el depósito de la muestra del estuche.
6. Se esperó un máximo de 15 min para leer los resultados.

Interpretación de los resultados

Resultado negativo: aparece una línea de color rojo-púrpura sobre la ventana central de lectura, en la posición de la Línea de control (C). No se observan más bandas.

Resultado positivo: además de una banda de color rojo-púrpura en la Línea de control (C), aparece una banda visible de color rojo-púrpura en una de las posiciones de la línea de test (OXA-48, KPC o NDM). La intensidad de la línea puede variar en función de la cantidad de antígenos, así como del tipo de variante presente en la muestra.

Se consideró el resultado positivo si aparece cualquier línea de color rojo-púrpura en el test (OXA-48, KPC o NDM) aunque sea leve.

Si la única línea positiva del test es la línea O, la muestra contiene OXA-48 o la variante parecida a la OXA-48. Si la única línea positiva del test es la línea K, la muestra contiene KPC. Si la única línea positiva del test es la línea N, la muestra

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

contiene la variante de NDM. Se pueden producir combinaciones de líneas de positivos en el test. En tal caso, la muestra contiene la combinación de varias carbapenemasas.

Resultado inválido: La ausencia de una línea de control indica un error en el procedimiento del test. Repetir los test inválidos con un dispositivo de test nuevo.

Almacenamiento: las tiras inmunocromatográficas se almacenaron entre 4 – 8 °C.

IV.5.8. Determinación la susceptibilidad y antibiotipos de los aislados productores de carbapenemasas de acuerdo a la clasificación multidrogorresistente, extremodrogorresistente y pandrogorresistente de n=71 cepas productoras de carabapenemasas

Para la determinación de la susceptibilidad a diversos antibióticos de las cepas productoras de carbapenemasas (n= 71) se empleó el método de difusión por disco (Kirby-Bauer), en agar Müller Hinton (Oxoid Ltd.) y se evaluaron los antimicrobianos que se muestran en la tabla IV.3. Los resultados obtenidos se interpretaron acorde a los criterios establecidos por el *CLSI* de 2018 (61).

Para el control de la calidad se emplearon las cepas ATCC: *E. coli* 25922, 35218 y *Staphylococcus aureus* 27212

Para la clasificación de los aislados, productores de carbapenemasas (n=71) como multidrogorresistente, extremodrogorresistente y pandrogorresistente se analizó los patrones de resistencia a los antibióticos acorde a los criterios descritos en la tabla IV.2, donde se exponen los antibióticos y categoría de resistencia para estas definiciones. En la tabla IV.3 se muestran las concentraciones y abreviaturas de los antibióticos que se evaluaron por el método convencional de Bauer y Kirby.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Tabla IV.3. Antibióticos evaluados frente a cepas productoras de carbapenemasas

*Antimicrobianos	Contenido	Abreviatura
Ampicilina/sulbactam	0.016–256 g/L	AMS
Piperacilina/tazobactam	100/10 µg	TZP
Aztreonam	30 µg	ATM
Cefotaxima	0.016–256 mg/L	CTX
Meropenem	0.002–32 µg/MI	MRP
Gentamicina	0.064–1024 mg/L	CN
Amikacina	30 µg	AK
Ciprofloxacina	0,002–32 mg/L	CIP
Fosfomicina	200 µg	FOS
Trimetropim/sulfametoxazol	1.25/23.75 µg	SXT
Colistina	0.016–256 mg/L	COL
Tigeciclina	0.016–256 mg/L	TG

*Casa comercial: (Liofilchem)

IV.6. Análisis estadístico

Los datos fueron almacenados en una base de datos en Microsoft Excel procesados con el paquete estadístico Epidat v3.1.

Ante el predominio de NDM, la baja prevalencia de carbapenemasas de tipo KPC y la ausencia de OXA-48 que se encontró al cumplimentar el objetivo uno; solamente se evaluó la exactitud diagnóstica para la detección de metalobetalactamasas. Para ello se compararon los resultados de los diagnosticadores (KIT ROSCO KPC/MBL y CORIS-RESIST- 3.0.K.N), con el resultado del estándar de referencia o patrón de oro (PCR en tiempo real) una vez normalizado e implementado en el LNR-IAAS. Un resultado positivo del estuche comercial ROSCO o CORIS-RESIST- 3.0.K.N para metalobetalactamasa se asoció con la producción de carbapenemasas y tipo de esta, según dicho resultado y un resultado negativo se asoció con la no producción de carbapenemasas.

Los resultados de las pruebas diagnósticas fueron clasificados como verdaderos positivos, falsos positivos, verdaderos negativos y falsos negativos comparados con la PCR en tiempo real, datos con lo que se calcularon la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Validez: Se midió por los cálculos de la sensibilidad y la especificidad. El resultado de la prueba se interpretó como correcto (verdadero positivo y verdadero negativo) o incorrecto (falso positivo y falso negativo).

a) Sensibilidad diagnóstica: es la probabilidad de clasificar correctamente a una cepa productora de carbapenemasa. Las cepas se clasificaron en verdaderos positivos y falsos negativos tomando como referencia la PCR en tiempo real.

b) Especificidad diagnóstica: es la probabilidad de clasificar correctamente a una cepa como no productora de carbapenemasa cuando no porta el gen.

Seguridad: viene determinada por el valor predictivo de un resultado positivo o negativo.

Valor predictivo positivo: probabilidad de estar infectado por una Enterobacteria productora de carbapenemasa cuando se obtiene un resultado positivo con los diagnosticadores: ROSCO KPC/MBL y CORIS-RESIST- 3.0.K.N. Se calculó según la fórmula: $VPP = VP / (VP + FP)$

Valor predictivo negativo: probabilidad de no estar infectado por una Enterobacteria productora de carbapenemasa cuando se obtiene un resultado negativo con los diagnosticadores: ROSCO KPC/MBL y CORIS-RESIST- 3.0.K.N. Se calculó según la fórmula: $VPN = VN / (VN + FN)$.

Para cada parámetro a evaluar se estimó su intervalo de confianza (IC) para un nivel de confiabilidad de 95%.

Prueba de concordancia: Se determinó el índice de validez o concordancia, por el coeficiente de Kappa (K) como grado de concordancia no aleatoria entre las mediciones de los resultados obtenidos por los diagnosticadores: ROSCO KPC/MBL y CORIS-RESIST- 3.0.K.N en estudio y la PCR.

Para establecer la concordancia entre los métodos se aplicó la clasificación de Landis y Koch (62):

- pobre o débil para valores menores a 0,40
- moderada, para valores de entre 0,41 y 0,60
- buena, entre 0,61 y 0,80
- muy buena para valores superiores hasta 1

IV.7. Aspectos Éticos

El presente trabajo de tesis para optar por el título de Máster en Bacteriología-Micología, cuenta con la aprobación de la Comisión Científica Especializada de Microbiología y del Comité de Ética del Instituto “Pedro Kourí” (Anexos 2; 3).

Conflicto de intereses: Se declara la ausencia de conflictos de intereses con los productores, comercializadores ni otras partes involucradas.

Aspectos de Bioseguridad: Todos los investigadores, el alumno de tesis y personal técnico que participo en la investigación estuvo capacitado e instruido en las operaciones relacionadas con su trabajo y debe seguir lo dispuesto en el Manual de Bioseguridad del IPK en relación a las buenas prácticas y uso de equipos de protección personal (batas y sobretabas, guantes). El LNR-IAAS seleccionado para el estudio tiene las condiciones para el correcto procesamiento y caracterización de las cepas, así como para garantizar la eliminación final del material de desecho contaminado.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las enterobacterias por su frecuencia en aislamientos, mecanismos patogénicos y resistencia antimicrobiana que presentan, se consideran de gran importancia en la etiología de infecciones ya sea, a nivel hospitalario o en la comunidad (63). En el período de estudio se caracterizaron 100 aislados de enterobacterias resistentes a carbapenémicos recibidos en el LNR-IAAS-IPK, de las cuales 71 fueron productoras de carbapenemasas, procedentes de pacientes atendidos en diferentes hospitales a nivel nacional.

En el presente estudio de manera retrospectiva se trabajaron 22 aislados de Enterobacterias resistentes a carbapenémicos cuyos géneros y especies se describieron en el acápite de materiales y métodos, y de manera prospectiva se trabajaron 78 aislados de Enterobacterias resistentes a carbapenémicos los que se identificaron como: 55 *Klebsiella spp.*, 15 *E. coli*, dos *Enterobacter spp.*, dos *Citrobacter spp.*, dos *Morganella morganii*, un *Proteus vulgaris* y una *Serratia marcescens*.

La identificación en géneros y especies bacterianas fue de crucial importancia para el estudio, debido a la resistencia natural que presentan algunos de los microorganismos que integran la familia *Enterobacteriaceae*. Por ejemplo, resalta la resistencia natural a colistina en *Proteus spp.*, *Morganella spp.* y *Providencia spp.*; así como la presencia de AmpC cromosómico inducible en *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Providencia spp.*, *Citrobacter freundii* y *M. morganii*. Por tanto, la correcta identificación orienta al microbiólogo en el momento de realizar e interpretar la susceptibilidad a los antimicrobianos (64, 65).

Las EPC, tienen gran repercusión a nivel mundial por diferentes razones entre estas: la gran diseminación que presentan debido a que en la mayoría de los casos los genes que codifican las carbapenemasas son de localización plasmídica lo que facilita en gran medida la diseminación de estas enzimas, entre las que destacan las del tipo NDM, KPC, y OXA-48 por la producción de brotes nosocomiales y situaciones endémicas en diferentes países del mundo. En la presente investigación del total de cepas productoras de carbapenemasas 71% (71/100), el 100% (71/71) produjo NDM, un 12.67% (9/71) el tipo KPC y un 9.85% (7/71) produjo la tipo VIM.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura V.1 se muestran la producción simultánea de diferentes tipos de carbapenemasas por una misma cepa, hallazgo de gran repercusión terapéutica y epidemiológica. La asociación de diferentes tipos de carbapenemasas se produjo en 21% (15/71) de los aislados con la distribución siguiente: NDM - KPC 12% (8/71), NDM - VIM 8% (6/71), y finalmente NDM – KPC - VIM 1% (1/71).

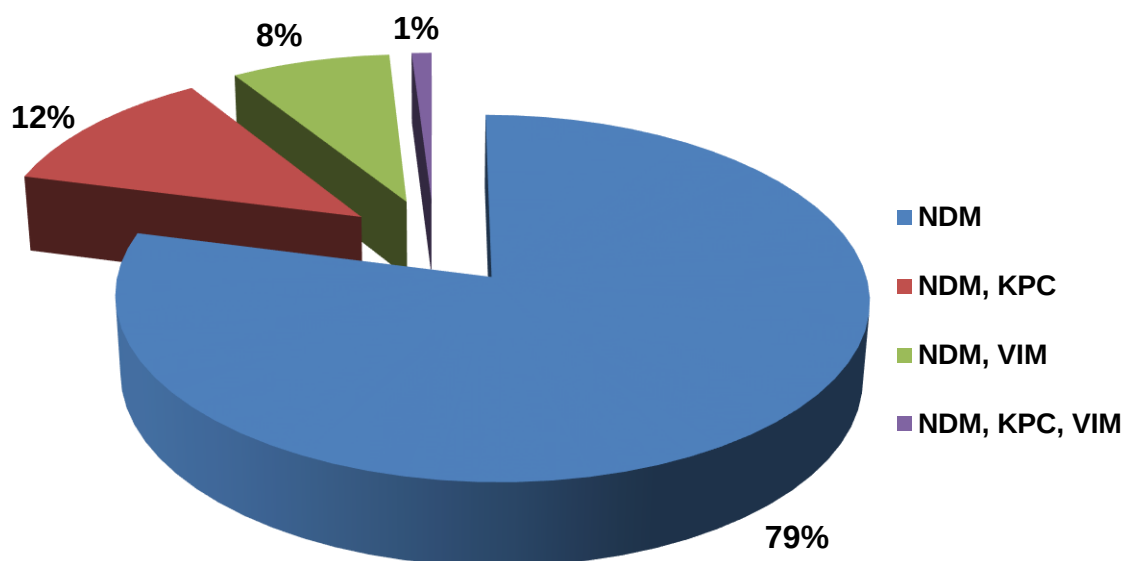


Figura V.1. Distribución de carbapenemasas en enterobacterias aisladas de muestras clínicas de pacientes cubanos (n=71). Instituto “Pedro Kourí”, 2015-2018

La carbapenemasa tipo NDM es la enzima de mayor repercusión epidemiológica a nivel mundial por su rápida propagación. Esta enzima ocasiona resistencia a todos los betaláctamicos, excepto aztreonam. El primer reporte de la misma fue en 2008 en New Delhi, India y llega a Las Américas en 2010 (6). Su rápida diseminación en esta región fue motivo de una alerta epidemiológica por la OPS-OMS en 2011 (66). Los resultados de la presente investigación evidencian que Cuba, no queda exenta de esta problemática, ya que 79% (56/71) de las EPC presentaron este tipo de enzima (Figura V.1).

En Cuba, el primer reporte de carbapenemasas NDM fue en 2012, en una cepa de *Acinetobacter soli* (14). Sin embargo, los resultados de esta investigación evidencian el cambio peculiar que sufrió la epidemiología de las mismas en el país, ya que se presentó en todas las cepas de EPC estudiadas. Por otra parte, ratifican la capacidad de los mecanismos de resistencia de transmisión plasmídica de compartir la información genética con otras especies y familias de bacterias, lo que facilita su propagación clonal y geográfica (22).

La KPC (KPC- 2) es el tipo más común de enzima producido por enterobacterias en China (42). Por otra parte, Escandón y colaboradores en un estudio de revisión notifican que en Latinoamérica y el Caribe, este es el mecanismo de resistencia a carbapenémicos más frecuente (49). Aunque los resultados de este estudio son discordantes a la epidemiología actual de las carbapenemasas en la mayoría de los países de la región, evidencian el incremento en el tiempo de la KPC en Cuba, desde el primer reporte en 2010 (46). Por otra parte, concuerdan con lo que reportan en Guatemala Velásquez y colaboradores, quienes no encuentran KPC y notifican 91% de *K. pneumoniae* productora de NDM (67).

Con esta investigación se reporta, por vez primera en el país, la carbapenemasa tipo VIM la que se detectó en siete cepas: cuatro *K. pneumoniae*, dos *K. aerogenes* y una *E. coli*. Las cuatro cepas de *K. pneumoniae* se correspondieron a un mismo hospital lo que supone un suceso epidemiológico grave con sospecha de diseminación de esta enzima en el medio hospitalario o la ocurrencia de un brote.

A pesar de que varios países de Las Américas (México, Argentina, Venezuela y Colombia) reportan casos de enterobacterias productoras de VIM, especialmente en *K. pneumoniae*, la mayor prevalencia de esta enzima es en bacilos no fermentadores (BNF) y *P. aeruginosa* es uno de los reservorios principales (49). Por tanto, esto puede justificar la baja prevalencia que se encontró de la misma dado que el presente estudio solo se limitó a enterobacterias. Sin embargo, este hallazgo constituye un incentivo para fortalecer la vigilancia de carbapenemasas en los BNF ya que son causa

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

importante de infecciones en hospitales cubanos como *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y *Stenotrophomonas maltophilia*.

La figura V.2 muestra las especies de Enterobacterias productoras de carbapenemasas identificados por PCR en tiempo real. El mayor número de cepas pertenecieron al género *Klebsiella* (54/71), los que se distribuyeron de la siguiente manera: 48 *K. pneumoniae*, 3 *K. aerógenes*, 2 *K. ornitolytica* y 1 *K. terrígena*. Además se detectaron otros géneros como: *Escherichia* (ocho *E. coli*), *Morganella* (tres *M.morganii*), *Enterobacter* (dos *E. cloacae*), *Citrobacter* (un *C. freundii*, un *C. koserii*), *Proteus* (un *P. vulgaris*) y *Serratia* (una *S.marcescens*).

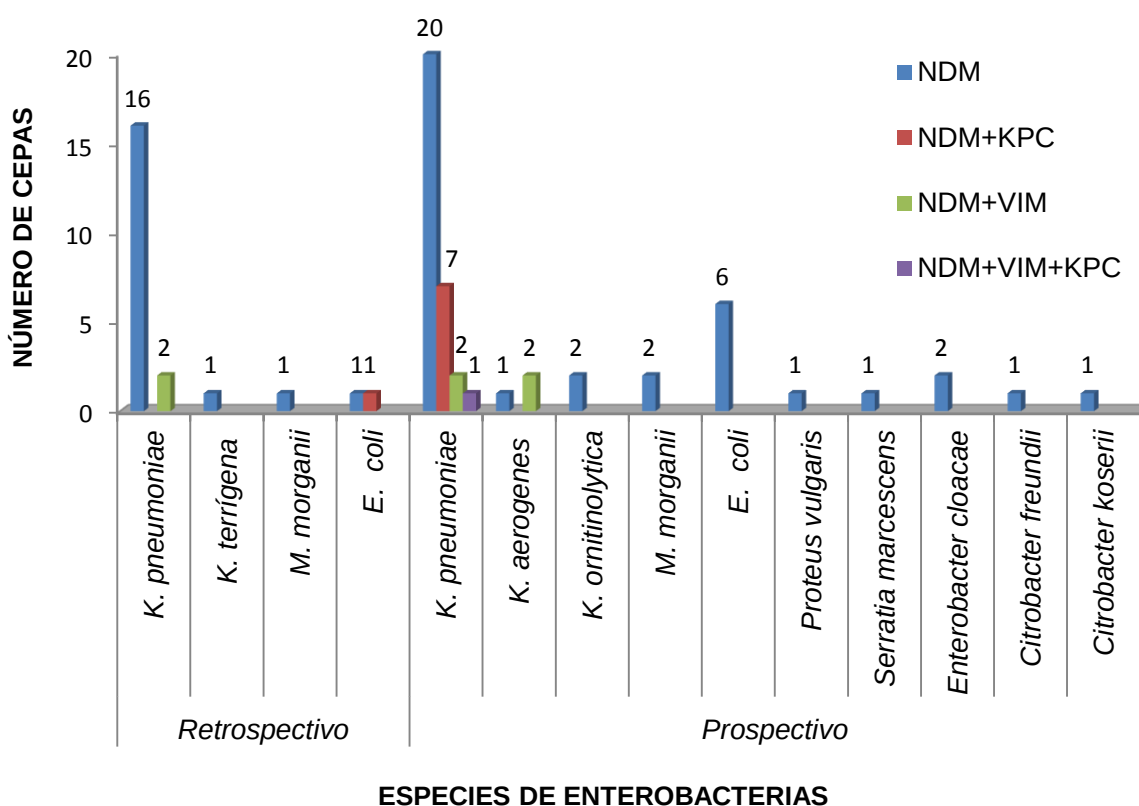


Figura V.2. Distribución de carbapenemasas según especies de Enterobacterias (n=71). Instituto “Pedro Kouri” 2015-2018

Es importante señalar, que en una misma cepa bacteriana se presentó producción simultánea de diferentes enzimas, (Figura V.2). Algo semejante se reporta en Brasil, La India, Pakistán y China, donde se describen la coexistencia de KPC y NDM en un mismo aislamiento; fundamentalmente en los géneros: *Klebsiella*, *Entereobacter* y

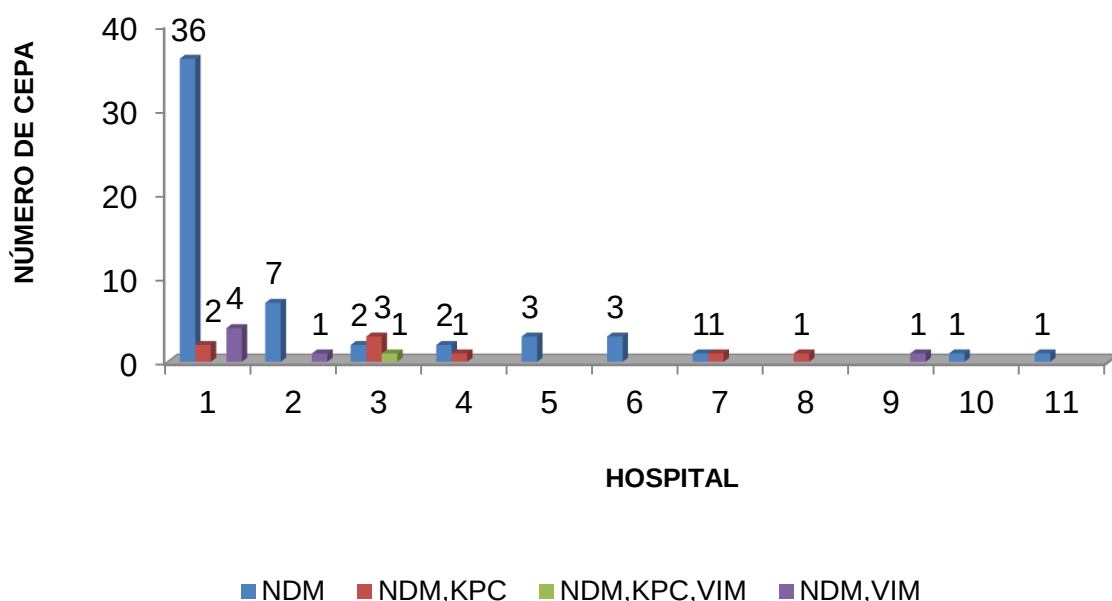
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Citrobacter (45). Los aislamientos de EPC con más de un tipo de carbapenemasas son inquietantes por las limitaciones terapéuticas que esto acarrea ya que en la mayoría de los casos presentan resistencia antibiótica extrema.

Como se aprecia en la figura V.2, *K. pneumoniae* representó 68% (48/71) por lo que resultó la EPC más frecuente, lo que resalta su versatilidad en la producción de carbapenemasas. En esta especie la emergencia de carbapenemasas es alarmante a nivel internacional y la tipo KPC, es la enzima más frecuente (68-70). No obstante, Oteo y colaboradores (2014) recalcan el cambio drástico en la epidemiología de las EPC en España con el incremento global de los casos detectados, fundamentalmente en *K. pneumoniae*, que desde el primer reporte en 2005 de una metalobetalactamasa de tipo VIM-1 (23).

De igual forma en Argentina, Lespada y col (2018), reportaron la rápida diseminación de *K. pneumoniae* productora de carbapenemasa a lo largo de los últimos 7 años, donde representa la principal EPC a nivel intrahospitalario (71). En Colombia, las primeras carbapenemasas tipo NDM se notifican en esta especie y posteriormente en *E. coli*, lo que hace referencia a la transferencia horizontal del gen *bla*_{NDM} (72, 73). Por la prevalencia elevada de esta enzima que se detectó en diferentes géneros bacterianos de EPC procedentes de varios hospitales del país es evidente que este gen también se transfirió entre los aislamientos cubanos.

En cuanto a la distribución por hospitales de las EPC que formaron parte del estudio, el hospital 1 presentó una mayor prevalencia. No obstante, en todos los hospitales que enviaron aislados de enterobacterias resistentes a carbapenémicos al LNR-IAAS, se detectó al menos un tipo carbapenemasa, como se aprecia en la (Figura V.3)



Leyenda: Los nombres de los hospitales fueron asignados con una codificación estratégica por cuestiones de ética institucional.

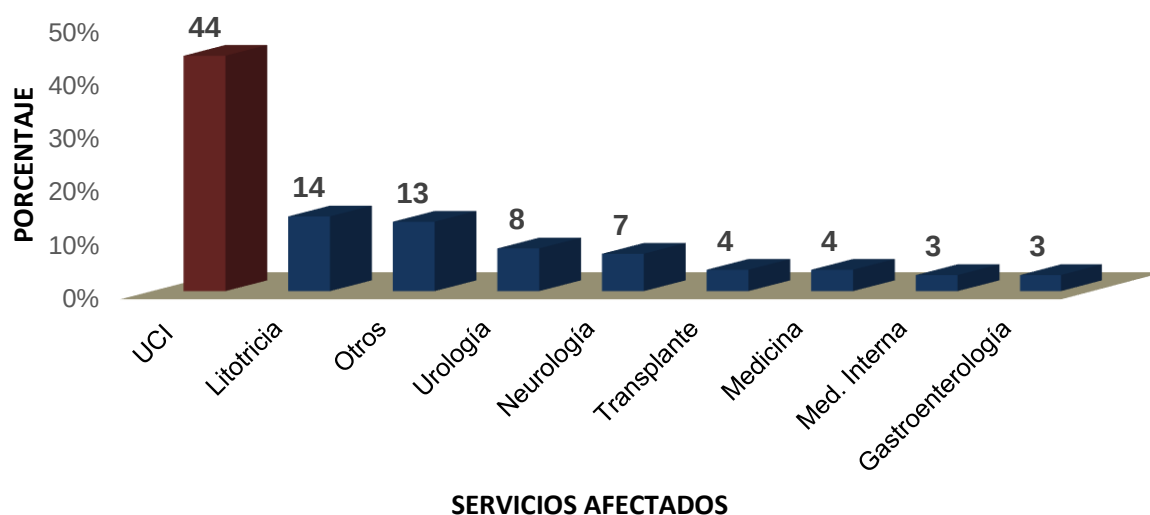
Figura V.3. Distribución de tipos de carbapenemasas, en hospitales cubanos que forman parte del estudio. Instituto “Pedro Kourí”, 2015-2018

Puesto que el hospital 1 aportó el mayor número de carbapenemasas se hace necesario la implementación en el mismo de los cultivos de vigilancia epidemiológica. Esto proporcionará la detección precoz de portadores asintomáticos, principales reservorios de estas enzimas en el medio hospitalario. Además contribuirá, al desencadenamiento de medidas de prevención y control según las recomendaciones de la OMS.

Los resultados de esta investigación alertan a las autoridades pertinentes sobre la necesidad de la detección precoz del caso índice para tomar conductas terapéuticas apropiadas y establecer estrategias de control de brotes. Con lo cual se resalta la gran relevancia que desde el punto de vista epidemiológico tiene para los hospitales afectados este tipo de estudio. Además se evidencia, la importancia de realizar estudios de epidemiología molecular para determinar la diseminación plasmídica entre pacientes del mismo hospital u hospitales diferentes, así como conocer clones los circulantes.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura V.4 muestra la distribución de las EPC según los servicios hospitalarios afectados. Como se puede apreciar en la misma, el mayor número de aislamientos 44% (31/71) procedió de UCI, con lo cual se evidencia la prevalencia elevada de las carbapenemasas en los servicios de atención al paciente grave.



Leyenda: Unidad de cuidados intensivos (UCI); consulta externa (C/E); medicina interna (Med. Interna).

Figura V.4. Distribución de aislamientos productores de carbapenemasas por servicios afectados. Instituto “Pedro Kouri”, 2015-2018

Los pacientes ingresados en UCI, tienen mayor riesgo para adquirir infecciones por microorganismos multirresistentes, ya que la presión antibiótica en los mismos es mayor y adicionalmente se someten a diversas manipulaciones invasivas. Esto favorece la selección de cepas resistentes y el incremento en la presión de colonización en dichas unidades. Además se debe descartar la probabilidad de que ocurran fallos en las medidas de prevención y control de las infecciones.

Son frecuentes los informes que resaltan el predominio en las UCI de las infecciones por EPC. Por ejemplo, Brañas y colaboradores en 2018, en España notifican mayor frecuencia de aislamientos de *K. pneumoniae* productora de carbapenemasas en el servicio de UCI con 29.9% (40). En Guatemala, Velásquez y colaboradores, reportan

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

mayor prevalencia de EPC en UCI (53%) desde el primer aislamiento en 2012 de las mismas en el Hospital San Juan de Dios (67).

Se citan diversos factores de riesgos que predisponen a la infección por EPC como: enfermedades subyacentes críticas, uso previo de agentes antimicrobianos, ingreso en UCI, trasplante de órganos, intervención quirúrgica, cateterización y tubo de drenaje permanente. En esta investigación no fue objetivo evaluar los factores de riesgo asociados a las infecciones por EPC; sin embargo, se encontró una gran diseminación y variabilidad de tipos de carbapenemasas, fundamentalmente en pacientes graves. Teniendo en cuenta el consecuente incremento de la mortalidad y de los costos que esto implica para el sistema de salud cubano, se hace imprescindible el diagnóstico rápido de este mecanismo emergente como medida clave para su contención.

Por tanto, se realizó la evaluación de dos métodos fenotípicos para la detección de carbapenemasas (tabletas combinadas ROSCO y el método inmunocromatográfico Coris RESIST 3 O.K.N) comparado con el método de referencia, PCR tiempo real. De esta manera se cuenta con evidencias científicas para derivar recomendaciones claves para el MINSAP sobre la implementación de dichos métodos en la Red de Laboratorios de Microbiología del país donde no existe ningún método diagnóstico rápido para esta emergencia.

Ante el predominio de NDM, la baja prevalencia de carbapenemasas de tipo KPC y la ausencia de OXA-48 que se encontró al cumplimentar el objetivo uno; solamente se evaluó el desempeño de los métodos para la detección de metalobetalactamasas. En la tabla V.1 se muestran los resultados de la evaluación del desempeño de la prueba fenotípica de tabletas combinadas ROSCO vs PCR en tiempo real.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla V.1. Evaluación del desempeño del método de tabletas combinadas ROSCO, para diagnóstico de metalobetalactamasas en enterobacterias. Instituto “Pedro Kouri”, 2015- 2018

Parámetros:	Valor	IC (95%)	
Sensibilidad	92,96%	83,65%	97,38%
Especificidad	100%	85,44%	99,69%
VPP	100%	93,15%	99,86%
VPN	85,29%	68,17%	94,46%
Índice de Kappa	0,88	0,78	0,98

Leyenda: Valor predictivo positivo (VPP), Valor predictivo negativo (VPN), intervalo de confianza (IC).

Como se aprecia en la tabla V.1 se obtuvo una sensibilidad mayor de 90% y 100% de especificidad. Los resultados de los valores predictivos positivo y negativo fueron muy representativos 100% y 85%, respectivamente. Además, el nivel de concordancia (0,88), fue muy bueno según el índice de kappa. Por tanto, se demuestra que el método evaluado es tan bueno como el de referencia según la escala de interpretación establecida por Landis y Koch (62).

En publicaciones previas donde se evaluó este método se reportan valores de sensibilidad y especificidad entre (90% y 100%) fundamentalmente para carbapenemasas de clase A. Específicamente el grupo de Aguirre y cols en España reportan valores de 92,1% y 82,5%, (sensibilidad y especificidad respectivamente) (34).

En la tabla V.2 se muestran los resultados de la evaluación del desempeño del método inmunocromatográfico Coris RESIST 3 O.K.N vs PCR en tiempo real donde se obtuvo una sensibilidad de 87,32% y una especificidad de 100%. En cuanto a los valores predictivos positivo y negativo los resultados obtenidos fueron muy representativos 100% y 76% respectivamente. En adición, según el índice de kappa (0,80) el nivel de concordancia es bueno, lo que nos demuestra que el método evaluado es tan bueno como el de referencia.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla V.2. Evaluación del desempeño del método inmunocromatográfico Coris RESIST 3 O.K.N, para diagnóstico de metalobetalactamasas en enterobacterias. Instituto “Pedro Kouri”, 2015-2018

Parámetros:	Valor	IC (95%)	
Sensibilidad	87,32%	76,80%	93,69%
Especificidad	100%	85,44%	99,69%
VPP	100%	92,73%	99,85%
VPN	76,32%	59,38%	87,97%
Índice de Kappa	0,80	0,68	0,92

Leyenda Valor predictivo positivo (VPP), Valor predictivo negativo (VPN), intervalo de confianza (IC).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo concuerdan con los de Wareham y col (Reino Unido) y los de Glupczynski y col (Francia) los cuales al evaluar este método reportan 100% de sensibilidad y especificidad (36, 74). A pesar de que los valores de sensibilidad que obtuvieron (87,32%) en la presente investigación fueron inferiores, estos no dejan de ser resultados verdaderamente positivos en cuanto al desempeño del estuche inmunocromatográfico.

Una vez evaluados los métodos (tabletas combinadas ROSCO e inmunocromatográfico Coris RESIST 3 O.K.N), se demostró que en nuestras condiciones ambos tienen un buen desempeño para la detección de metalobetalactamasas. Por tanto, en la tabla V.3 se muestran las ventajas y desventajas prácticas que presentan estos métodos lo que ayudará a la hora de decidir cuál de ellos es más factible para incorporar en la red de laboratorios de microbiología del país.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla V.3. Comparación de métodos inmunocromatográfico Coris RESIST 3 O.K.N y método de tabletas combinadas ROSCO para diagnóstico de metalobetalactamasas en enterobacterias. Instituto “Pedro Kourí”, 2015-2018

Método de tabletas combinadas ROSCO	Método inmunocromatográfico Resist 3 O.K.N
Requiere de personal capacitado para la realización.	No requiere de personal calificado para realizarlo.
Interpretación de resultados luego de 18 a 24 horas luego de la realización.	Tiempo de interpretación en 15 min, luego de la realización.
Detecta metalobetalactamasas, pero no discrimina en cuanto a los tipos de las mismas.	Específico para carbapenemasas de tipo NDM, KPC y OXA-48.

En el presente estudio se realizó el análisis de los perfiles de resistencia de las EPC. Esto permitió la detección de cepas extremadrogorresistencia (XDR) y pandrogorresistentes (PDR), lo cual resalta su importancia. Si se tiene en cuenta que en Cuba, no se dispone de otras opciones terapéuticas la diseminación de estas cepas conllevará al incremento de la morbilidad y mortalidad asociadas a las infecciones bacterianas.

En el presente estudio se encontró 28% (20/71) de cepas MDR. Estas se agruparon acorde a sus antibiotipos en 16 patrones de los cuales tres se repitieron en más de un aislamiento como se muestra en la tabla V.4. La mayor resistencia se encontró frente a los betalactámicos con inhibidores de betalactamasas, cefalosporinas de 3ra generación, aminoglucósidos y monobactámicos.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla V.4. Antibiotipo de enterobacterias productoras de carbapenemasas multidrogorresistentes (n =20). Instituto “Pedro Kourí”, 2015-2018

PATRÓN	T	MDR											
		AMS	TZP	CTX	ATM	FOS	CIP	MRP	COL	CN	AK	SXT	TG
1	3	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	S
2	2	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S
3	2	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R
4	1	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	R	S
5	1	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	R	S
6	1	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S
7	1	R	S	R	R	S	S	R	S	R	R	R	S
8	1	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S	S
9	1	R	R	R	R	S	R	R	S	S	R	R	R
10	1	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S
11	1	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S
12	1	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	S
13	1	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S	R
14	1	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R	S	S
15	1	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	S
16	1	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S

Leyenda: T (Total), AMS (ampicilina-sulbactam), TZP(piperacilina-tazobactam), CTX(cefotaxima), ATM (aztreonam), FOS (fosfomicina), CIP (ciprofloxacina), MRP (meropenem), COL (colistina), CN (gentamicina), AK (amikacina), SXT (trimetropim-sulfametoxazol), TG (tigeciclina).

Se conoce que el mayor problema de la RAM, se centra en patógenos hospitalarios por el uso frecuente de antibióticos, factor de riesgo fundamental en la emergencia de mecanismos de resistencia como lo son las betalactamasas (75). El fenómeno de la multirresistencia en enterobacterias relacionados con IAAS en Cuba se documenta en una investigación previa del LNR-IAAS/IPK que incluyó varias instituciones hospitalarias del país (76). Por lo que, al analizar de manera conjunta los resultados del presente trabajo con lo que se viene reportando en el país desde años anteriores hace pensar que el fenómeno de cepas MDR es una amenaza creciente en hospitales cubanos (77).

Por otra parte, esta es una problemática que afecta varias regiones del mundo. En Delhi, Manchanda y colaboradores reportan más de 94% de *K. pneumoniae* MDR y BLEE positivas (78). Además, King y colaboradores en un hospital de Malasia, reportan (33%) de aislados de *E. coli* productora de BLEE con perfil de MDR (79).

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En cuanto los antibióticos que demostraron ser efectivos frente a cepas MDR se puede citar a la colistina y tigeciclina ambas con un 80% de sensibilidad; la fosfomicina mostró valores de 60% y ciprofloxacina 35%. Estos resultados son similares a los obtenidos por Cifuentes y colaboradores (2012) en Chile donde reportan a colistina como el antimicrobiano con mayor actividad *in vitro* ante cepas MDR de *K. pneumoniae* portadoras de carbapenemasas de tipo KPC (80).

En este estudio se detectaron 62% (44/71) de cepas XDR, las cuales son una alarma en cualquier sistema de salud, debido a las escasas o nulas opciones terapéuticas, como se evidencia en la Tabla V.5. En esta, se refleja la resistencia marcada a inhibidores de betalactamasas, cefalosporinas de 3ra generación, fluoroquinolonas, aminoglucósidos y sulfonamidas. Además de los 8 patrones de resistencia que se obtuvieron, los 3 primeros son los más representativos en esta clasificación ya que representan el 75%.

Tabla V.5. Antibiotipo de cepas de enterobacterias productora de carbapenemasas extremadrogorresistentes (n=44) y pandrogorresistentes (n=7). Instituto “Pedro Kouri”, 2015-2018

PATRÓN	TOTAL	XDR											
		AMS	TZP	CTX	ATM	FOS	CIP	MRP	COL	CN	AK	SXT	TG
1	14	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R
2	10	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S
3	9	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
4	4	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
5	3	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R
6	2	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
7	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
8	1	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S
PATRÓN	TOTAL	PDR											
1	7	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

Leyenda: AMS (ampicilina-sulbactam), TZP(piperacilina-tazobactam), CTX(cefotaxima), ATM (aztreonam), FOS (fosfomicina), CIP (ciprofloxacina), MRP (meropenem), COL (colistina), CN (gentamicina), AK (amikacina), SXT (trimetropim-sulfametoxazol), TG (tigeciclina).

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio reafirman el planteamiento de Guan y col quienes afirman que el fenotipo XDR en enterobacterias se debe principalmente a la producción de carbapenemasas.

No obstante, ellos también plantean que se pueden presentar otros mecanismos de resistencia a antibióticos como la producción de BLEE, AmpC, bomba de eflujo y mutaciones relacionadas con porinas que no fueron objeto de estudio en la presente investigación (81).

En la figura V.5 se muestra el porcentaje de sensibilidad que presentaron las cepas XDR frente a colistina, fosfomicina y tigeciclina como alternativas de tratamiento frente a las mismas. En ella se puede apreciar que 82% fue sensible *in vitro* a colistina por lo cual se mantiene como una buena opción terapéutica.

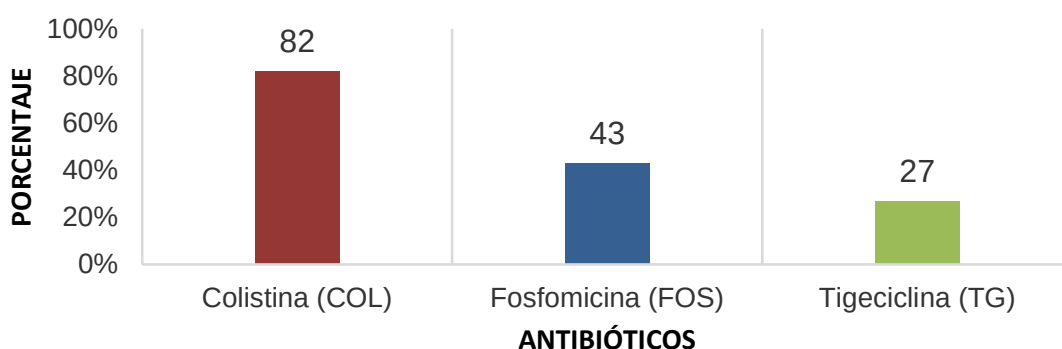


Figura V.5. Susceptibilidad de cepas XDR a la colistina, la fosfomicina y la tigeciclina (n = 44). Instituto "Pedro Kourí", 2015-2018

Rodríguez y colaboradores (2014) en España, reportan que la eficacia del uso de colistina en terapia combinada es mayor que cuando se utiliza en monoterapia. Por lo que recomiendan que siempre se use de manera combinada con otro antimicrobiano como: tigeciclina, fosfomicina, aminoglucósidos. También, se puede usar en infusión continua con meropenem siempre y cuando presente valores de CIM para este último $\leq 16 \mu\text{g/mL}$ (82).

Otros antimicrobianos también presentaron actividad *in vitro* frente a cepas XDR, como la fosfomicina (43%), tigeciclina (27%). Aunque en ambos con actividad reducida, también se recomiendan utilizar en terapia combinada para potenciar la actividad antimicrobiana (83). Medina (2012), en un estudio que incluyó casos de

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

diversos países, destaca la eficacia del uso de tigeciclina de manera combinada ante cepas XDR y PDR (84).

No obstante, cabe destacar que la tigeciclina no alcanza concentraciones séricas adecuadas por tanto es una limitación para su uso en bacteriemia o sepsis, una de las infecciones más frecuentes causadas por EPC, como lo demuestra esta investigación.

Por lo tanto, el hallazgo de cepas XDR en este estudio constituyen una alarma para las instituciones de salud en Cuba, ya que no se cuentan con antibióticos de última generación para combatir la infecciones por este tipo de cepas como ceftolozano/tazobactam, ceftazidima/avibactam y meropenem/vaborbactam aprobados por la FDA en años recientes (85). Se encarecen, además los costos sanitarios pues el tratamiento de estas infecciones requiere de terapias combinadas y la mayoría de las evoluciones clínicas no son favorables.

En cuanto a cepas PDR se encontraron 7 aislados según clasificación previamente descrita. Estos resultados son inferiores a lo que reportan en Colombia, Chávez y colaboradores (2015) donde obtienen 19% de cepas PDR, no obstante en ese estudio solo se incluyeron aislamientos de *A. baumannii* (86).

Una prioridad de la OMS, es el incentivo en la producción de nuevos antimicrobianos pues la mortalidad asociada a la RAM supera las 700 000 muertes anuales. Además, aboga por potenciar la inmunoprofilaxis, terapias con fagos, péptidos sintéticos, probióticos, uso de lisinas, anticuerpos antibacterianos como otras de las alternativas para disminuir el consumo de antimicrobiano y combatir la RAM (87).

Como se muestra en la figura V.6 la especie *K. pneumoniae* fue en la que se encontró todos los tipos de patrones (MDR, XDR y PDR). Por otra parte, *E. coli* fue la segunda especie que aportó el mayor número de aislamientos (XDR y PDR). Además es importante resaltar que la única cepa de *S. marcescens* que formó parte del estudio resultó PDR.

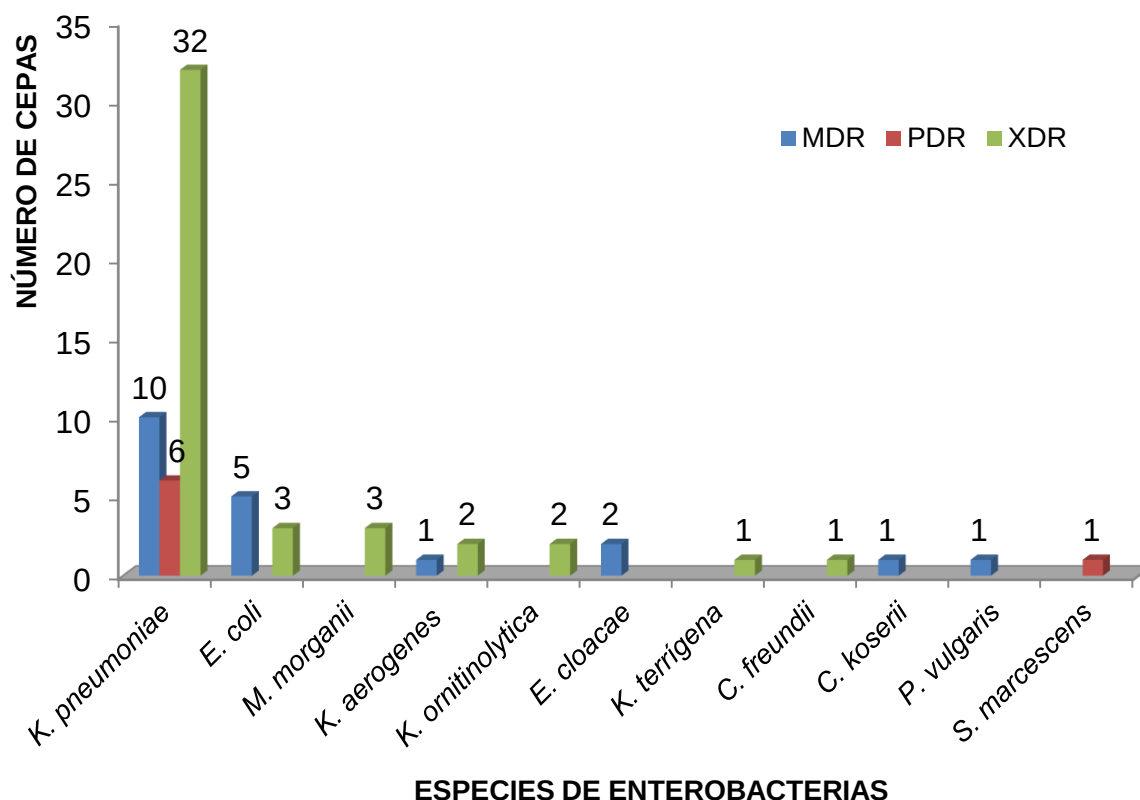


Figura V.6. Distribución de cepas multidrogorresistentes; extremodrogorresistentes y pandrogorresistentes según especies de enterobacterias (n=71). Instituto “Pedro Kouri”, 2015-2018

Las especies más comunes de enterobacterias MDR, XDR y PDR reconocidas a nivel internacional son *K. pneumoniae*, seguida por *E. coli* (81). Esto justifica que en este estudio *K. pneumoniae* fuera la especie con mayor variabilidad de patrones, además de que aportó el 68% de los casos de EPC, principalmente con NDM. Además, esto es concordante con lo que reportan Delgado y colaboradores (2017) en Perú, al caracterizar diferentes aislados de *K. pneumoniae* con MBL de tipo NDM, ante las cuales los recursos terapéuticos fueron prácticamente nulos y destaca la rápida diseminación de este tipo de carbapenemasa (88).

En estas especies se describen una gran variedad de mecanismos de resistencia, fundamentalmente de betalactamasas de transmisión plasmídica (BLEE, AmpC, NDM y KPC); en cuyos plásmidos se transportan genes que codifican resistencia para otras familias de antimicrobianos. Esto desencadena la aparición de cepas con resistencia

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

extrema o pan resistencia, con lo cual el arsenal terapéutico, queda prácticamente, desprovisto.

En el presente estudio del total de cepas PDR el 86% se identificó como *K. pneumoniae* y el 14% como *S. marcescens*. De estas, el 100% fueron positivas a NDM, una de las principales razones de su amplia resistencia a diferentes grupos de antimicrobianos. Resultados equivalentes obtienen Pardo y colaboradores (2014), en España, quienes destacan la resistencia cruzada a diferentes familias antimicrobianas, en cepas con MBL de tipo NDM. Ellos informan el predominio de resistencia a los betalactámicos, a excepción del aztreonam cuyos niveles de resistencia son variables; los aminoglucósidos; las fluoroquinolonas y los inhibidores de betalactamasas (89).

A modo de resumen la resistencia a los antimicrobianos es una amenaza cada vez mayor para la salud pública mundial. El aumento masivo del comercio y los movimientos migratorios como consecuencia de la globalización permiten que las bacterias no respeten fronteras y ocurra una diseminación global de clones MDR.

Los datos recabados en esta investigación demuestran que las enterobacterias relacionadas a las IAAS en hospitales cubanos desafían las acciones en salud con producción y diseminación de mecanismos emergentes de resistencia como lo son las carbapenemasas, lo que propicia la aparición de rasgos de MDR, XDR y PDR. Por tanto se requiere fortalecer las capacidades de los laboratorios de Microbiología. Esto permitirá la detección y confirmación oportuna de la producción de carbapenemasas por bacilos gram negativos con la implementación de los métodos evaluados en esta tesis que demostraron tener muy buen desempeño en nuestras condiciones.

VI. CONCLUSIONES

- Las carbapenemasas tipo NDM, KPC y la emergencia de VIM en Enterobacterias causantes de infecciones en hospitales cubanos constituyen una alerta epidemiológica, principalmente en las Unidades de Cuidados Intensivos.
- La producción de carbapenemasas, entre diferentes géneros de la familia Enterobacteriaceae, evidencia la amplia diseminación entre especies donde *K. pneumoniae* es el principal reservorio de esta emergencia.
- El método inmunocromatográfico RESIST-3 O.K.N y el fenotípico de tabletas combinadas ROSCO constituyeron valiosas herramientas para el diagnóstico robusto de carbapenemasas en la red de laboratorios de microbiología del país donde se requiere su implementación de forma inmediata.
- La circulación de diferentes especies de enterobacterias XDR y PDR en hospitales cubanos demanda un fortalecimiento de la vigilancia de la resistencia antimicrobiana, la implementación de los programas de optimización de usos de antimicrobianos y la disponibilidad de nuevos antibióticos con inhibidores de carbapenemasas.

VII. RECOMENDACIONES

- Alertar a la Dirección Nacional de Epidemiológica del Minsap sobre el incremento de la circulación de Enterobacterias productoras de diferentes tipos de carbapenemasas en hospitales del país, sus implicaciones clínicas y terapéuticas.
- Proponer a las autoridades de Salud Pública, Minsap, la introducción del método inmunocromatográfico RESIST 3 O.K.N para el diagnóstico de carbapenemasas como primera medida de contención, de esta problemática en hospitales del país.
- Realizar la secuenciación de ADN de las cepas productoras de carbapenemasas para conocer variantes genéticas de cada tipo, así como, la circulación de clones híper epidémicos responsables de su diseminación.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. González Alemán M. Resistencia antimicrobiana, una amenaza mundial. Revista Cubana de Pediatría [Internet]. 2013 [citado 22 de octubre 2018];85(4):414-7. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312013000400001&nrm=iso.
2. Paciel D, Seija V, Prieto J, Vignoli R, Medina J, Savio E. Enterobacterias productoras de KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa). Rev Tendencias [Internet]. 2011 [citado 17 de agosto 2018];12(3):1-9. Disponible en: http://www.infectologia.edu.uy/images/stories/pdf/publicaciones/biomedicas/tendencias/KPC_pacieletal.pdf.
3. María Casellas J. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. Rev Panam Salud Publica [Internet]. 2012 [citado 14 de noviembre 2018];30(6):519–28. Disponible en: <http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/9428/a04v30n6.pdf?sequence=1>.
4. Yábar M, Curi Pesantes B, Torres C, Calderón Anyosa R, Riveros M, Ochoa T J. Multirresistencia y factores asociados a la presencia de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* provenientes de urocultivos. Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet]. 2017 [citado de 24 de septiembre 2018];34(4):660-5. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v34n4/a12v34n4.pdf>.
5. Cortés J. Resistencia en enterobacterias: evolución, enzimas y ambiente. Infectio [Internet]. 2011 [citado 5 de octubre 2018];15(3):145-6. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922011000300001&nrm=iso.
6. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Alerta epidemiológica: Diseminación de carbapenemasas en *Klebsiella pneumoniae* en Latinoamérica. [Internet]. 2010 [citado 25 de mayo 2019]. Disponible en: www.paho.org.
7. Cué Brugueras M, Morejón García M. Antibacterianos de acción sistémica: Parte I. Antibióticos betalactámicos. Revista Cubana de Medicina General Integral [Internet]. 1998 [citado 9 de octubre 2018];14:347-61. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21251998000400008&nrm=iso.
8. Diene S M, Rolain J M. Carbapenemase genes and genetic platforms in Gram-negative bacilli: *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. Clinical Microbiology and Infection [Internet]. 2014 [citado 12 de octubre 2018];20(9):831-8. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X14650874>.
9. Moreno Monge K M. Carbapenémicos: Tipos y mecanismos de resistencia bacterianos. Rev Med Costa Rica [Internet]. 2013 [citado 6 de agosto 2018];608(4):559-605. Disponible en: <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/608/art8.pdf>.
10. López Cerero L, Almirante B. Epidemiology of infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: Reservoirs and transmission mechanisms. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2014 [citado 5 de noviembre 2018];32(4):10-6. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X14701697>.
11. Maguiña Vargas C, Ugarte Gil C A, Montiel M. Uso adecuado y racional de los antibióticos. Acta Médica Peruana [Internet]. 2006 [citado 8 de noviembre 2018];23(5):15-20. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172006000100004&nrm=iso.
12. Menacho O, Candela O J, García Hjarles M. Bacterias patógenas multidrogaresistentes aisladas en estetoscopios de médicos en un hospital de nivel III. Rev Med Hered [Internet]. 2017 [citado 6 de diciembre 2018];28(3):242-6. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2017000400005&nrm=iso.
13. Navarro F, Calvo J, Cantón R, Fernández Cuenca F, Mirelis B. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2011 [citado 3 de diciembre 2018];29(7):524-34. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-deteccion-fenotipica-mecanismos-resistencia-microorganismos-S0213005X11001546>.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

14. Quiñones D, Carvajal I, Perez Y, Hart M, Perez J, Garcia S, et al. High prevalence of bla OXA-23 in *Acinetobacter* spp. and detection of bla NDM-1 in *A. soli* in Cuba: report from National Surveillance Program (2010-2012). *New microbes and new infections* [Internet]. 2015 [citado 12 de diciembre 2018];7(3):52-6. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/PMC4511621/>.
15. Ruiz Carrascoso G. Características microbiológicas y clínico-epidemiológicas de enterobacterias productoras de carbapenemasa oxa-48 en el contexto de un brote hospitalario. [Tesis Doctoral]. España : Facultad de farmacia departamento de microbiología II, Universidad Complutense de Madrid; 2016.
16. Galas M, Jiménez A, Tijerino A, Vargas J. Mecanismos de resistencia a los antibióticos de importancia clínica en enterobacterias. In: INEI, editor. II Curso Avanzado WHO-Global Foodborne Infections Network (GFN); Costa Rica: INCIENSA; 2011.
17. Ocampos Ugarte J G, Takahasi Alvarez V E. Enterobacterias productoras de carbapenemasas en pacientes del Servicio de Clínica Médica del Hospital Nacional de Itauguá. *Rev virtual Soc Parag Med Int* [Internet]. 2015 [citado 1 de octubre 2018];2(2):33-42. Disponible en: <http://scielo.iics.una.py/pdf/spmi/v2n2/v2n2a04.pdf>.
18. Tafur J D, Torres J A, Villegas M V. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Infectio* [Internet]. 2008 [citado 8 de diciembre 2018];12(3):227-32. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922008000300007&nrm=iso.
19. Janda W M, Sommers H M, Winn W C. *Enterobacteriaceae*. In: Koneman E W, Allen S D, Dowell V R, editors. *Dianóstico microbiológico*. Vol 4. 3a ed. Mexico : Editorial médica panamericana; 1998. p. 203-67.
20. Mairi A, Touati A, Bessai S, Boutabtoub Y, Khelifi F, Sotto A, et al. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae among pregnant women and newborns in Algeria: Prevalence, molecular characterization, maternal-neonatal transmission, and risk factors for carriage. *American Journal of Infection Control* [Internet]. 2018 [citado 19 de marzo 2019];47(32):105-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2018.07.009>.
21. Suárez Trueba B, Bustamante Pérez Y, Hart Casares M, Romero García M, González Maestrey A, Martínez Batista M L. Caracterización de aislamientos intrahospitalarios de *Klebsiella pneumoniae* en un hospital terciario. *Rev Cub Med* [Internet]. 2015 [citado 30 de agosto 2018];54(4):323-36. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/med/vol54_4_15/med06415.htm.
22. Montúfar Andrade F, Mesa Navas M, Aguilar Londoño C, Saldarriaga Acevedo C, Quiroga Echeverr A, Builes Montaña C, et al. Experiencia clínica con infecciones causadas por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa, en una institución de enseñanza universitaria en Medellín, Colombia. *Infectio* [Internet]. 2016 [citado 10 de enero 2019];20(1):17-24. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0123939215000831>.
23. Oteo J, Calbo E, Rodríguez J, Oliver A, Hornero A, Ruiz P, et al. La amenaza de las enterobacterias productoras de carbapenemasas en España: documento de posicionamiento de los grupos de estudio GEIH y GEMARA de la SEIMC. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2014 [citado 5 de enero 2019];32(10):666-70. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-la-amenaza-las-enterobacterias-productoras-S0213005X14000809>.
24. Vera Leiva A, Barría Loaiza C, Carrasco Anabalón S, Lima C, Aguayo Reyes A, Domínguez M, et al. KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa, principal carbapenemasa en enterobacterias. *Rev Chilena Infectol* [Internet]. 2017 [citado 30 de noviembre 2018];34(5):476-84. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182017000500476&nrm=iso.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

25. Solórzano Puerto A. Betalactamasas de espectro extendido en nuestro medio: Aportaciones científicas. [Tesis Doctoral]. España: Departamento de Microbiología, Universidad de Granada; 2004.
26. Ovalle M V, Saavedra S Y, González M N, Hidalgo A M, Duarte C, Beltrán M. Resultados de la vigilancia nacional de la resistencia antimicrobiana de enterobacterias y bacilos Gram negativos no fermentadores en infecciones asociadas a la atención de salud, Colombia, 2012-2014. Biomédica [Internet]. 2017 [citado 10 de diciembre 2018];37(6):473-85. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572017000400473&nrm=iso.
27. Morejón García M. Betalactamasas de espectro extendido. Rev Cub Med [Internet]. 2013 [citado 26 de noviembre 2018];52(4):272-80. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232013000400006&nrm=iso.
28. Calvo J, Cantón R, Fernández Cuenca F, Mirelis B. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos. In: Navarro F, Cercenado E, Cantón R, editors. Procedimientos en Microbiología Clínica. Vol 4. 3a ed. España: Seimc; 2011. p. 1-54.
29. Rivero Arias E, Herrera Torres M A, Larrondo Muguercia H, Lozano Valdez D, León Perez D. Carbapenémicos y monobactámicos. Revista Cubana de Medicina [Internet]. 1998 [citado 6 de agosto 2018];8(1):66-70. Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/act/vol8_1_98/act09198.htm.
30. Oliver A. Epidemiología y mecanismos de resistencia a carbapenemas en *Pseudomonas aeruginosa*: papel de los clones de alto riesgo en la multirresistencia. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2017 [citado 7 de diciembre 2018];35(3):137-8. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-epidemiologia-mecanismos-resistencia-carbapenemas-pseudomonas-S0213005X1630386XER>.
31. Queenan A M, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. Clinical microbiology reviews [Internet]. 2007 [citado 10 de diciembre 2018];20(3):440-58. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17630334>.
32. Muñoz C, Zumarán C, González T, Wozniak A, Castillo C, García P. Evaluación de test rápidos y diseño de una estrategia para la detección y caracterización de carbapenemasas en cepas de bacilos gramnegativos. Rev Chilena Infectol [Internet]. 2017 [citado 29 de noviembre 2018];34(4):326-32. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182017000400326&nrm=iso.
33. Shields R K, Nguyen M H, Press E G, Chen L, Kreiswirth B N, Clancy J C. In Vitro Selection of Meropenem Resistance among Ceftazidime-Avibactam-Resistant, Meropenem-Susceptible *Klebsiella pneumoniae* Isolates with Variant KPC-3 Carbapenemases. Antimicrobial Agents and Chemotherapy [Internet]. 2017 [citado 5 de diciembre 2018];61(5):1-5. Disponible en: <https://aac.asm.org/content/aac/61/5/e00079-17.full.pdf>.
34. Aguirre Quinonero A, Martínez Martínez L. Non-molecular detection of carbapenemases in *Enterobacteriaceae* clinical isolates. J Infect Chemother [Internet]. 2017 [citado 21 de marzo 2019];23(6):1-11. Disponible en: <https://www.clinicalkey.es/#!/content/journal/1-s2.0-S1341321X16301866>.
35. Nicola F, Nievas J, Smayevsky J. Evaluación de diversos métodos fenotípicos para la detección de carbapenemasas KPC en *Klebsiella pneumoniae*. Revista Argentina de Microbiología [Internet]. 2012 [citado 18 de marzo 2019];44(4):290-302. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=213025174010>.
36. Wareham D W, Abdul Momin M H. Rapid Detection of Carbapenemases in *Enterobacteriaceae*: Evaluation of the Resist-3 O.K.N. (OXA-48, KPC, NDM) Lateral Flow Multiplexed Assay. J Clin Microbiol [Internet]. 2017 [citado 18 de marzo 2019];55(4):1223-25. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28151407>.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

37. March Rosselló G. Métodos rápidos para la detección de la resistencia bacteriana a antibióticos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2017 [citado 28 de junio 2019];35(3):182-8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2016.12.005>.
38. Morejón García M. Multirresistencia en bacilos gramnegativos y médico de asistencia. *Rev Cub Med* [Internet]. 2012 [citado 21 de noviembre 2018];51(4):278-9. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232012000400001&nrm=iso.
39. Quintanilla M. Control de brotes por enterobacterias productoras de carbapenemasas. *Rev Chilena Infectol* [Internet]. 2017 [citado 12 de diciembre 2018];34(4):421-31. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182017000400421&nrm=iso.
40. Brañas P, Gil M, Villa J, Orellana M, Chaves F. Molecular epidemiology of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* infection/colonisation in a hospital in Madrid. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2018 [citado 4 de octubre 2018];36(2):100-3. Disponible en: <http://www.elsevier.es/en-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-english-428-articulo-molecular-epidemiology-carbapenemase-producing-enterobacteriaceae-infection-colonisation-S2529993X18300121>.
41. Reyes Chacón J A, Villacís Acuña J E, Chicaiza Alomoto S, Satán Salazar C, Salas Iglesias S, Ushiña Cueva L, et al. Inactivación del carbapenémico, un método alternativo para detectar carbapenemasa tipo KPC en *Enterobacteriaceae*. *Infectio* [Internet]. 2017 [citado 13 de diciembre 2018];21(4):251-4. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922017000400251&nrm=iso.
42. Lee C-R, Lee JH, Park KS, Kim YB, Jeong BC, Lee SH. Global Dissemination of Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology, Genetic Context, Treatment Options, and Detection Methods. *Frontiers in Microbiology* [Internet]. 2016 [citado 1 de noviembre 2018];7(895):1-30. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.00895>.
43. Jeong SH, Kim HS, Kim JS, Shin DH, Kim HS, Park MJ, et al. Prevalence and Molecular Characteristics of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* From Five Hospitals in Korea. *Annals of laboratory medicine* [Internet]. 2016 [citado 26 de octubre 2018];36(6):529-35. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/PMC5011105/>.
44. Villegas M, Lolans K, Correa A, Suárez C, Lopez J, Vallejo M, et al. First detection of the plasmid-mediated class A carbapenemase KPC-2 in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from South America. *Antimicrobial agents and chemotherapy* [Internet]. 2006 [citado 28 de mayo 2019];50(8):2880-2. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1538657/>.
45. Du H, Chen L, Chavda KD, Pandey R, Zhang H, Xie X, et al. Genomic Characterization of *Enterobacter cloacae* Isolates from China That Coproduce KPC-3 and NDM-1 Carbapenemases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [Internet]. 2016 [citado 17 de octubre 2018];60(4):2519-23. Disponible en: <https://aac.asm.org/content/aac/60/4/2519.full.pdf>.
46. Quiñones D, Hart M, Espinosa F, García S, Carmona Y, S G, et al. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates producing KPC-2 carbapenemase in Cuba. *New Microbes and New Infections* [Internet]. 2014 [citado 25 de mayo 2019];2(4):123-6. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4184581/>.
47. Day K, Ali S, Mirza I, Sidjabat H, Silvey A, Lanyon C, et al. Prevalence and molecular characterization of *Enterobacteriaceae* producing NDM-1 carbapenemase at a military hospital in Pakistan and evaluation of two chromogenic media. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* [Internet]. 2013 [citado 20 de marzo 2019];75(16):187–91. Disponible en: <https://www.clinicalkey.es/#!/content/journal/1-s2.0-S0732889312004506?scrollTo=%231-s2.0-S0732889312004506-gr2>.
48. Cantos E, Aracil A, Bautista B, Ortega V, Lara A, Saez N, et al. The Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Population Is Distinct and More Clonal than the

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Carbapenem-Susceptible Population. Antimicrobial Agents and Chemotherapy [Internet]. 2017 [citado 22 de octubre 2018];61(4):1-5. Disponible en: <https://aac.asm.org/content/aac/61/4/e02520-16.full.pdf>.
49. Escandón Vargas K, Reyesa S, Gutiérreza S, Villegasa M. The epidemiology of carbapenemases in Latin America and the Caribbean. Expert Review of Anti-infective Therapy [Internet]. 2016 [citado 3 de junio 2019];3(2):301-21. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/14787210.2017.1268918>.
50. Morales I. Ertapenem: Una nueva clase de carbapenem. Rev Chil Infect [Internet]. 2003 [citado 19 de noviembre 2018];20(4):270-6. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182003000400008&nrm=iso.
51. Curcio D, Istúriz E. Tigeciclina, la primera glicilciclina. Rev Panm Infectol [Internet]. 2006 [citado 14 de mayo 2019];8(3):35-42. Disponible en: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LLACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=439231&indexSearch=ID>.
52. Saavedra Trujillo C H, Arias León G, Gualtero Trujillo S M, Leal A L, Savedra Rojas S Y, Murcia M I. Factores de riesgo para infección o colonización por *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos en pacientes adultos hospitalizados en Unidades de Cuidado Intensivo, Bogotá, Colombia. Infectio [Internet]. 2016 [citado 6 de diciembre 2018];20(4):238-49. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0123939216000084>.
53. Suárez C J, Kattán J N, Guzmán A M, Villegas M V. Mecanismos de resistencia a carbapenems en *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Enterobacteriaceae* y estrategias para su prevención y control. Infectio [Internet]. 2006 [citado 7 de diciembre 2018];10(2):85-93. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922006000200006&nrm=iso.
54. Barcenilla Gaite A, Jover Sáenz M, Vallverdú D, Castellana P. Nuevas opciones terapéuticas para el tratamiento de las bacterias multirresistentes en Unidades de Cuidados Intensivos. Rev Esp Quimioter [Internet]. 2008 [citado 7 de marzo 2019];21(1):9-13. Disponible en: <https://seq.es/resumen-del-articulo/resumen-articulo-2008/rev-esp-quimioter-200821num-ext-19-13/>.
55. Paterson D. Infecciones debidas a otros miembros de *Enterobacteriaceae* y control de cepas multirresistentes. Clinical Key [Internet]. 2017 [citado 18 de marzo 2019];25(18):60-2. Disponible en: <https://www.clinicalkey.es/#!/content/book/3-s2.0-B9788491130338003050?scrollTo=%23hl0000318>.
56. Cercenadoa E, Saavedra Lozanob J. El antibiograma (II): fenotipos de resistencia y lectura interpretada. An Pediatr Contin [Internet]. 2009 [citado 18 de marzo 2019];7(5):282-7. Disponible en: <https://www.clinicalkey.es/#!/content/journal/1-s2.0-S1696281809725806?scrollTo=%231-s2.0-S1696281809725806-gr1>.
57. Caravaca Fontán F, Jiménez S, Marcén Letosa R, Fernández Rodríguez A, Rodríguez Navarro C. Ceftazidima-avibactam en el tratamiento de infecciones urinarias por *Klebsiella* productora de carbapenemasa en trasplante renal. Nefrología [Internet]. 2015 [citado 27 de mayo 2019];35(4):412-3. Disponible en: <https://www.revistanefrologia.com/es-ceftazidima-avibactam-el-tratamiento-infecciones-urinarias-articulo-S0211699515000703ER>.
58. Torres Pliego E, Delgado Mejía E, Gil Alonso L, Periañez Párraga L. Primer caso de administración de ceftazidima/avibactam en hospitalización a domicilio. Bacteriemia por *Klebsiella pneumoniae* BLEE multirresistente. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica [Internet]. 2017 [citado 27 de mayo 2019];35(5):322-3. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-primer-caso-administracion-ceftazidima-avibactam-hospitalizacion-S0213005X16302567ER>.
59. Durán L. Resistencia antimicrobiana e implicancias para el manejo de infecciones del tracto urinario. Revista Médica Clínica Las Condes [Internet]. 2018 [citado 27 de mayo 2019];29(4):412-3.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- 2019];29(2):213-21. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0716864018300294>.
60. Detección y notificación de patógenos multi-rresistentes, con resistencia extrema o pan-resistentes. Uruguay: Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos y Red Interamericana de Laboratorios de Análisis de alimentos, 2019.
61. Clinical and Laboratory Standars Institute (CLSI). Performance Standars for Antimicrobial Disk Susceptibility Test. Pennsylvania, USA 2018. Available from: www.clsi.org.
62. Cortés Reyes E, Rubio Romero J, Gaitán Duarte H. Métodos estadísticos de evaluación de la concordancia y la reproducibilidad de pruebas diagnósticas. Fecolsog [Internet]. 2010 [citado 26 de mayo 2019];61(3):20-31. Disponible en: [http://www.fecolsog.org/userfiles/file/revista/Revista_Vol61No3_Julio_Septiembre_2010/v61_n3a09](http://www.fecolsog.org/userfiles/file/revista/Revista_Vol61No3_Julio_Septiembre_2010/v61_n3a09.htm) .htm.
63. López Vargas J A, Echeverri Toro L M. K. *pneumoniae*: ¿la nueva "superbacteria"? Patogenicidad, epidemiología y mecanismos de resistencia. Iatreia [Internet]. 2010 [citado 15 de mayo 2019];23(2):157-65. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-07932010000200007.
64. Navarro F, Miro E, Mirelis B. Lectura interpretada del antibiograma de enterobacterias. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2010 [citado 15 de mayo 2019];28(9):638–45. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-lectura-interpretada-del-antibiograma-enterobacterias-S0213005X10002193>.
65. Rodríguez C, Radice M, Perazzi B, Castro S, Juárez J, Santini P, et al. Resistencia enzimática a betalactámicos en el género *Proteus* y evaluación de los fenotipos y genotipos de resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación en *Proteus mirabilis*. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2015 [citado 15 de mayo 2019];23(3):122-6. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-resistencia-enzimatica-betalactamicos-el-genero-13072160>.
66. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Alerta epidemiológica: Primer hallazgo de carbapenemasas de tipo New Delhi metalobetalactamasas (NDM) en Latinoamérica. [Internet]. 2011 [citado 25 de mayo 2019]. Disponible en: www.paho.org.
67. Velásquez Porta T, Lau Bonilla D. Detección de los genes de carbapenemasas *blaKPC* y *blaNDM* en aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* del Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala. Rev Científica Guatemala [Internet]. 2017 [citado 21 de marzo 2019];16(2):8-17. Disponible en: <http://www.revistasguatemala.usac.edu.gt/index.php/qyf/article/view/474>.
68. Alves M, Silva Dias R, Castro A, Riley L, Meurer Moreira B. Identification of Clinical Isolates of Indole-Positive and Indole-Negative *Klebsiella* spp. Journal of clinical microbiology [Internet]. 2006 [citado 15 de mayo 2019];44(10):3640-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1594763/>.
69. Mantilla Anaya J , Barreto Hernández E, Velandia Rodríguez D. Identificación por PCR-SSCP de genes de cefotaximasas en aislamientos hospitalarios de Enterobacteriaceae. Rev Colomb Biotecnol [Internet]. 2009 [citado 15 de mayo 2019];11(2): 57-65. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752009000200007.
70. Wener K, Schechner V, Gold H, Wright S, Carmeli Y. Treatment with Fluoroquinolones or with -Lactam- -Lactamase Inhibitor Combinations Is a Risk Factor for Isolation of Extended-Spectrum- Lactamase-Producing *Klebsiella* spp. in Hospitalized Patients. Antimicrobial Agents and Chemotherapy [Internet]. 2010 [citado 15 de mayo 2019];54(5):2010-6. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20211888>.
71. Lespada M I, Córdova E, Roca V, Gómez N, Badía M, Rodríguez C. Bacteriemia por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC. Estudio comparativo y evolución en 7 años. Revista Española de Quimioterapia [Internet]. 2019 [citado 27 de mayo 2019];32(1):15-21. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6372954/>.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

72. Correa C, Castro E, Salamanca D, Bustacara L, Lemos E. *Escherichia Coli* productora de Nueva Delhi metalo- β -lactamasa en Colombia: reporte de caso. Infectio [Internet]. 2016 [citado 16 de mayo 2019];10(2):132-5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.22354/in.v21i2.658>.
73. Argüez A, Rodríguez Chávez A, Rojas Hernández N. *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de betalactamasas en pacientes con infección del tracto urinario. Revmie [Internet]. 2015 [citado 16 de mayo 2019];14(4):3-12. Disponible en: http://www.revmie.sld.cu/index.php/mie/article/view/114/html_30.
74. Glupczynski Y, Jousset A, Evrard S, Bonnin R, Huang T-D, Dortet L, et al. Prospective evaluation of the OKN K-SeT assay, a new multiplex immunochromatographic test for the rapid detection of OXA-48-like, KPC and NDM carbapenemases. J Antimicrob Chemother [Internet]. 2017 [citado 26 de mayo 2019];72(7):1955-60. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5890672/>.
75. Rodríguez Baño J, Pascual A. Microorganismos multirresistentes, ¿adquisición nosocomial o comunitaria? Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica [Internet]. 2004 [citado 6 de junio 2019];22(9):505-6. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-microorganismos-multirresistentes-adquisicion-nosocomial-o-S0213005X0473150XER>.
76. Quiñones Pérez D, Carmona Cartaya Y, Zayas Illas A, Capote M, Salazar Rodriguez D, García Giro S, et al. Resistencia antimicrobiana en aislamientos clínicos de *Klebsiella* spp. y producción de B-lactamasas de espectro extendido en hospitales de Cuba. Revista Cubana de Medicina Tropical [Internet]. 2014 [citado 25 de mayo 2019];66(3):386-99. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602014000300007.
77. Zayas A. Caracterización microbiológica de *Klebsiella* aislada en hospitales cubanos. [Tesis Maestría], Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri"; 2012.
78. Manchanda V, Singh N, Goyal R, Kumar A, Thukral S. Phenotypic characteristics of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and evaluation of available phenotypic techniques for detection of extended spectrum beta-lactamases. Indian J Med Res [Internet]. 2005 [citado 4 de junio 2019];122(3):330-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16394326>.
79. King Ting L, Rohani Y, Chew Chieng Y, Puthucheary S, Thong K. Characterization of multidrug resistant ESBL-producing *Escherichia coli* isolates from hospitals in Malaysia. J Biomed Biotechnol [Internet]. 2009 [citado 4 de junio 2019];2009:165637-. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2721974/>.
80. Cifuentes M, García P, San Martín P, Silva F, Zúñiga J, Reyes S, et al. Primer caso de detección de blaKPC en Chile: desde Italia a un hospital público de Santiago. Rev Chil Infect [Internet]. 2012 [citado 14 de mayo 2019];29 (2):224-38. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342017000200015.
81. Guan X, He L, Hu B, Hu J, Huang X, Lai G, et al. Laboratory diagnosis, clinical management and infection control of the infections caused by extensively drug-resistant Gram-negative bacilli: a Chinese consensus statement. Clin Microbiol Infect [Internet]. 2016 [citado 5 de junio 2019];22(3):15-25. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2015.11.004>.
82. Rodríguez Baño J, Cisneros J, Gudíol C, Martínez J. Treatment of infections caused by carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2014 [citado 12 de mayo 2019];32(4):49-55. Disponible en: <http://www.elsevier.es>.
83. Diomedi A. La experiencia clínica con tigeciclina. Rev Chil Infect [Internet]. 2009 [citado 14 de mayo 2019];26(1):17-22. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182009000300004.
84. Medina J, Guerra S. Infecciones hospitalarias por bacilos gram negativos multirresistentes: Diagnostico, tratamiento y medidas de prevencion. Femi Cocemi [Internet]. 2012 [citado 16 de mayo 2019];5(2):40-52. Disponible en: https://www.cocemi.com.uy/docs/ManualBGN2012_COCEMI.pdf.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

85. Lindsay A, Henig O, Twisha P, Jason M, Keith S. Overview of meropenem-vaborbactam and newer antimicrobial agents for the treatment of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. Infect Drug Resist [Internet]. 2018 [citado 27 de mayo 2019];11:1461-72. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30254477>.
86. Chávez M, Gómez R, Cabrera C, Esparza M. Patterns of *Acinetobacter baumannii* resistance to antibiotics in a Colombian hospital. An Fac med [Internet]. 2015 [citado 10 de mayo 2019];76(1):21-6. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832015000200004.
87. Oneill J, editor Tackling drug-resistant infections globally. Tackling drug-resistant infections globally; 2016; Estados Unidos: Antimicrobial resistance.
88. Delgado C, Montenegro J, Gonzalez A, Gonzales R, Espinoza C, Mamani Condori D, et al. *Klebsiella pneumoniae* Nueva delhi metalo-betalactamasa en el hospital nacional dos de mayo. Lima, Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet]. 2017 [citado 14 de mayo 2019];34(2):261-7. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342017000200015.
89. Paño Pardo J, Serrano Villar S, Ramos J, Pintado V. Infections caused by carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: Risk factors, clinical features and prognosis. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2014 [citado 12 de mayo 2019];32(4):41-8. Disponible en: <http://www.elsevier.es/>.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Modelo de recolección de datos. LNR-IAAS Vigilancia nacional de pacientes infectados con bacilos gram negativos portadores de fenotipos emergentes de resistencia

Nombre del Hospital: _____

Municipio: _____ Provincia: _____

Número de entrada de la muestra: _____ Fecha: _____

1.- Nombre del paciente: _____

2.- No. HC: _____

3.- Edad: ____ añosmeses.

4.- Diagnóstico al ingreso o tipo de infección: _____

5.- Sala de hospitalización: _____

6.- Enfermedades crónicas de base: Si ____ No ____ (¿En caso afirmativoCuál?.....)

7.- Ingreso hospitalario previo al cultivo: ____ días.

8.- Antecedentes de viajes al extranjero último año Si ____ No ____

9.- Tipo de muestra:

- a. Hemocultivo _____
- b. Espudo o aspirado bronquial _____
- c. Lavado bronquioalveolar _____
- d. Otro tipo de muestra respiratoria _____
- e. Herida/absceso (especificar localización) _____
- f. Orina _____
- g. Catéter _____
- h. LCR _____
- i. Otras, ESPECIFICAR _____

10.- Factores de riesgos

- a) Catéter venoso: Central: ____ Periférico ____ Arterial ____
- b) Sonda urinaria _____
- c) Sonda nasogástrica _____
- d) Ventilación mecánica invasiva _____
- e) Estancia prolongada en Unidades de Cuidados Intensivos
- f) Estancia prolongada hospitalaria
- g) Hemodiálisis ____ Diálisis peritoneal ____
- h) Otros _____
- i) Estuvo ingresado el paciente, previamente? (Hasta un año antes del ingreso actual)
No ____ Si ____ Referir nombre del hospital
- j) Ingreso previo en el mismo hospital o traslado de servicio _____
- k) Antibioterapia previa a la toma de la muestra: Si ____ No ____
- l) Especificar antibióticos _____.

11.- Resultados microbiológicos:

- a) Identificación de especie: _____
- b) Susceptibilidad antimicrobiana: _____
- c) Respuesta terapéutica frente a la infección:
- d) Satisfactoria:
- e) Especificar antibióticos _____ usados _____
- f) No satisfactoria: Por: _____
- g) Especificar cambio de antibióticos _____

12.- Fallecido

No ____ Si ____

Anexo 2. Aval de la Comisión Científica Especializada de Microbiología emitido a favor del estudio "Enterobacterias productoras de carbapenemasas en Cuba, tipos, evaluación de métodos para su detección y antibiotipos. Instituto "Pedro Kouri", 2018"

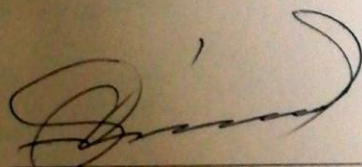
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL PEDRO KOURÍ (IPK)

**AVAL DE LA COMISIÓN CIENTÍFICA
ESPECIALIZADA DE MICROBIOLOGÍA**

Por este medio se hace constar que la Comisión Científica Especializada de Microbiología (CCEM), como órgano asesor científico-técnico del Centro de Investigación, Diagnóstico y Referencia del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK), ha aprobado el Protocolo de Tesis para optar por el título de Máster en Bacteriología-Micología titulado: **Métodos rápidos para la detección de carbapenemasas en Enterobacterias. IPK, 2018**, del *Q.F. Jonnathan Gerardo Ortiz Tejedor* y que tiene como tutoras a la Dra. Dianelys Quiñones Pérez, DrC. y la Dra. Yenisel Carmona Cartaya, MSc.

La ejecución de esta investigación permitirá implementar métodos rápidos, sensibles y específicos para la determinación de la resistencia a los carbapenémicos en enterobacterias, lo que será un aporte significativo para la adopción de estrategias en nuestro sistema nacional de salud.

La presente propuesta forma parte del proyecto asociado a programa **Fortalecimiento de la vigilancia nacional de la resistencia antimicrobiana en patógenos gramnegativos causantes de infecciones asociadas a la asistencia sanitaria**, código 283, LNR-IAAS, IPK.



Dr. Carlos M. Fernández Andreu
Secretario CCEM, IPK

La Habana, 7 de mayo de 2018



Anexo 3. Aval de la Comisión de Ética Institucional emitido a favor del estudio "Enterobacterias productoras de carbapenemasas en Cuba, tipos, evaluación de métodos para su detección y antibiotipos. Instituto "Pedro Kourí", 2018"



**COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"**

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN CEI-IPK 58-18

**"Métodos rápidos para la detección de carbapenemasas en
Enterobacterias. IPK, 2018"**

**INVESTIGADOR PRINCIPAL
Q.F. Jonnathan Gerardo Ortiz Tejedor**

Después de realizada la valoración y análisis correspondiente al presente documento por los integrantes del Comité de Ética de la institución, siguiendo las guías internacionales de trabajo de estas comisiones de la Organización Mundial de la Salud, emitimos el siguiente:

DICTAMEN

1. El documento presentado se ajusta a los principios establecidos por la Declaración de Helsinki así como a las normas y criterios éticos establecidos en los códigos nacionales de ética y regulaciones legales vigentes en Cuba.
2. En el protocolo aparecen reflejados de forma clara los aspectos éticos que se ajustan al tipo de investigación propuesta.
3. APROBADO SIN MODIFICACIONES, el protocolo presentado. La presente investigación constituye una tarea del proyecto de investigación CEI-IPK 39-17, aprobado previamente por el CEI-IPK (Investigador Principal: Dra. Dianelys Quiñones)

Dado, en el IPK, La Habana, a los 29 días del mes de mayo de 2018

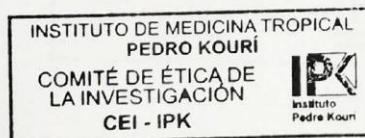
DrCs. Eric Martínez Torres
Presidente

DrC. María Caridad Montalvo Villalva
Miembro

DrCs. Pedro Más Bermejo
Vicepresidente

DrC. Ana Margarita Montalvo Alvarez
Miembro

DrC. Iliana Valdés Hernández
Secretaria



Anexo 3. Aval de la Comisión de Ética Institucional emitido a favor del estudio “Enterobacterias productoras de carbapenemasas en Cuba, tipos, evaluación de métodos para su detección y antibiotipos. Instituto “Pedro Kourí”, 2018”



COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL “PEDRO KOURÍ”

ANEXO 2

DECLARACIÓN DE AUSENCIA DE CONFLICTO DE INTERESES

Los abajo firmantes, miembros del CEI-IPK, que hemos revisado el protocolo de Investigación y demás documentos relacionados con el Proyecto: **“Métodos rápidos para la detección de carbapenemasas en Enterobacterias. IPK, 2018”** (CEI-IPK 58-18), **DECLARAMOS:**

No tener conflicto de intereses que impidan o comprometan la revisión objetiva de los mismos.

DrCs. Eric Martínez Torres
Presidente

DrC. María Caridad Montalvo Villalva
Miembro

DrCs. Pedro Más Bermejo
Vicepresidente

DrC. Ana Margarita Montalvo Álvarez
Miembro

DrC. Iliana Valdés Hernández
Secretaria

La Habana, 29 de mayo de 2018

