



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
MEDICINA

EVALUACIÓN DE MÉTODOS FENOTÍPICOS PARA LA DETECCIÓN DE
CARBAPENEMASAS OXA-48-LIKE EN ENTEROBACTERALES

EVALUATION OF PHENOTYPIC METHODS FOR THE DETECTION OF
OXA-48-LIKE CARBAPENEMASES IN ENTEROBACTERALES

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

AUTORES

GINA THALIA LOBATON ALMONACID
KARLA STEFANY BACA CAMACHO

ASESOR

JESUS HUMBERTO TAMARIZ ORTIZ

LIMA - PERÚ

2025

JURADO

PRESIDENTE: LIC. MARIA DEL CARMEN QUISPE MANCO

VOCAL: MG. LIDIO EDGAR NEYRA VALDEZ

SECRETARIO: LIC. DELIA MARGOT FAUSTINO ARIAS

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 26 DE FEBRERO DEL 2025

CALIFICACIÓN: APROBADO

ASESOR DE TESIS

ASESOR

DR. JESUS HUMBERTO TAMARIZ
ORTIZ DEPARTAMENTO ACADÉMICO
DE TECNOLOGÍA MÉDICA

ORCID: 0000-0002-0827-8117

DEDICATORIA

A Dios, a nuestros padres cuyo amor incondicional, apoyo y sacrificio han sido el pilar de nuestras vidas. A nuestro asesor por compartir su conocimiento y guiarnos en este camino. A los que nos impulsaron con palabras de aliento y también a los que dudaron, porque ambos nos dieron razones para seguir adelante. Y a nosotras mismas por cada noche en el laboratorio, por cada duda superada y por no rendirnos cuando parecía más fácil hacerlo. Este logro es para todos ustedes.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro más sincero agradecimiento a todos los miembros del Laboratorio de Resistencia Antimicrobiana y fagoterapia y al Laboratorio de Genómica microbiana de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Y como no agradecer al “Fondo de apoyo a la investigación 2024” por contribuir con esta investigación.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

El presente estudio fue financiado por el “Fondo de apoyo a la investigación” otorgado por la Facultad de Medicina - Universidad Peruana Cayetano Heredia en abril - 2024.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Las autoras declaran no tener conflictos de interés en la investigación, autoría o publicación.

RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
MEDICINA

EVALUACIÓN DE MÉTODOS FENOTÍPICOS PARA LA DETECCIÓN DE
CARBAPENEMASAS OXA-48-LIKE EN ENTEROBACTERIALES

EVALUATION OF PHENOTYPIC METHODS FOR THE DETECTION OF
OXA-48-LIKE CARBAPENEMASES IN ENTEROBACTERIALES

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

AUTORES

GINA THALIA LOBATON ALMONACID
KARLA STEFANY BACA CAMACHO

ASESOR

JESUS HUMBERTO TAMARIZ ORTIZ

LIMA - PERÚ
2025

8% Similitud estándar Filtros

Fuentes

Mostrar las fuentes solapadas i

- 1 Internet** ⊘ ∨
duict.upch.edu.pe <1%
5 bloques de texto 60 palabra que coinciden
- 2 Internet** ⊘ ∨
hdl.handle.net <1%
7 bloques de texto 59 palabra que coinciden
- 3 Internet** ⊘ ∨
repositorio.upch.edu.pe <1%
3 bloques de texto 56 palabra que coinciden
- 4 Internet** ⊘ ∨

TABLA DE CONTENIDOS

	Pág.
Resumen	
Abstract	
I. Introducción	1
II. Objetivos	4
III. Materiales y Métodos	5
IV. Resultados	13
V. Discusión	16
VI. Conclusiones	23
VII. Limitaciones	24
VIII. Recomendación	25
IX. Referencias bibliográficas	26
X. Tablas, gráficos y figuras	34
Anexos	

RESUMEN

Antecedentes: Las carbapenemasas OXA-48-like muestran una rápida expansión a nivel global, y el Perú no es ajeno a ello. La prueba *gold estándar* para su detección es la PCR y secuenciamiento, pero estos no son accesibles para los establecimientos de salud en nuestro medio. **Objetivo:** Evaluar el desempeño de métodos fenotípicos para la detección de carbapenemasas OXA-48-like en Enterobacteriales, en términos de sensibilidad y especificidad. **Material y métodos:** Se evaluaron 6 métodos fenotípicos para detectar la presencia de carbapenemasas en general y otros 7, para la detección específica de carbapenemasas OXA-48-like. Finalmente se evaluó la concentración mínima inhibitoria (MIC). **Resultados:** Las pruebas para detección general de carbapenemasas mostraron un buen desempeño analítico con sensibilidades y especificidades superiores a 94%. El CIM y el rCDM mostraron la mejor sensibilidad y especificidad del 99.2% y 100% (coef.Kappa = 0.98). Por otro lado, en la detección específica de OXA-48-like, la mayoría de las pruebas obtuvo una especificidad de 100% a excepción de TZP/ETP y TEM/AVI. El disco de temocilina en agar MH mostró la mayor sensibilidad con un 94% (coef.Kappa = 0.87) y el de menor sensibilidad fue el Disco OXA-48 con un 47% (coef.Kappa = 0.31). Con respecto a la MIC de meropenem, ertapenem e imipenem, se evidenció una diferencia significativa de las medianas ($p < 0.001$) entre las OXA-48-like y las cepas no productoras de este mecanismo de resistencia. **Conclusiones:** Las metodologías para detectar carbapenemasas en general mostraron alta sensibilidad y especificidad frente a OXA-48-like, mientras que las pruebas para detección específica de OXA-48-like obtuvieron resultados heterogéneos. Respecto a la MIC, el ertapenem destacó como indicador altamente sensible para este mecanismo de resistencia.

Palabras clave: Enterobacteriaceae Productoras de Carbapenemasa, Enterobacteriaceae Resistentes a los Carbapenémicos, Métodos Bacteriológicos, Pruebas de Sensibilidad Microbiana

ABSTRACT

Background: OXA-48-like carbapenemases are rapidly expanding globally, and Peru is no exception. The gold standard test for their detection is the PCR and sequencing, but these are not accessible to health facilities in our area. **Objective:** To evaluate the performance of phenotypic methods for the detection of OXA-48-like carbapenemases in Enterobacterales, in terms of sensitivity and specificity. **Methods and Materials:** Six phenotypic methods were evaluated to detect the presence of carbapenemases in general and another 7 for the specific detection of OXA-48-like carbapenemases. Finally, the minimum inhibitory concentration (MIC) was evaluated. **Results:** Of the 159 isolates evaluated, 117 were OXA-48-like producers. 69.2% of these were *Escherichia coli* and 4 isolates were dual carbapenemase producers. Within the general carbapenemase detection tests, the CIM and the rCDM showed the best sensitivity and specificity of 99.2% and 100% (Kappa coefficient = 0.98). On the other hand, in the specific detection of OXA-48-like, the temocillin disk on MH agar showed the highest sensitivity with 94% (Kappa coefficient = 0.87). Regarding the MIC of meropenem, ertapenem and imipenem, a significant difference in medians ($p < 0.001$) was evident between OXA-48-like and strains that do not produce this resistance mechanism. **Conclusion:** Methodologies for detecting carbapenemases in general showed high sensitivity and specificity against OXA-48-like, while tests for specific detection of OXA-48-like obtained heterogeneous results. Regarding MIC, ertapenem stood out as a highly sensitive indicator for this resistance mechanism.

Keywords: Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae, Bacteriological Techniques, Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae, Microbial Sensitivity Tests

I. INTRODUCCIÓN

El orden *Enterobacterales* incluye especies bacterianas que forman parte de la microbiota normal, así como especies que causan enfermedades, tales como infecciones intestinales, urinarias, neurológicas, sanguíneas y neumonías, entre otras (1). En las últimas décadas, se ha observado un incremento en los Enterobacterales resistentes a diversos grupos de antibióticos, particularmente a los carbapenémicos, que son considerados antibióticos de última línea de tratamiento. Esto ha dado lugar al surgimiento de Enterobacterales Resistentes a los Carbapenémicos (CRE, por sus siglas en inglés) (2). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), los CRE son considerados de prioridad crítica para la investigación, debido a su alto grado de letalidad y mortalidad (3,4,5).

La principal causa de CRE son las carbapenemasas, que constituyen un mecanismo de resistencia enzimática (2,6,7,8). Las carbapenemasas se encuentran en los grupos A, B y D de la clasificación de Ambler, siendo la KPC representativa de la clase A; la NDM, de la clase B conocidas como metalobetalactamasas (MBLs); y las OXA-48-like, de la clase D (6). Las OXA-48-like se han expandido rápidamente a nivel global debido a elementos genéticos móviles que facilitan su transferencia horizontal (9). Actualmente, se han identificado 59 variantes alélicas (10), siendo las más prevalentes a nivel mundial la OXA-48, OXA-181 y OXA-232 (6). En nuestro país, se han reportado diversos casos a nivel nosocomial (11,12,13,14,15). En 2023, se reportó la variante OXA-181 en Perú y Latinoamérica, una variante que no se había encontrado previamente en nuestro medio (12).

Los Enterobacterales productores de carbapenemasa OXA-48-like generalmente presentan alta actividad hidrolítica frente a penicilinas y cefalosporinas de espectro reducido, mientras que su actividad frente a carbapenémicos y cefalosporinas de

amplio espectro es baja (6). Esto resulta en una concentración mínima inhibitoria (MIC) baja frente a los carbapenémicos (6), lo que dificulta su identificación en el laboratorio. Sin embargo, la presencia de otro mecanismo de resistencia adicional, como Betalactamasa de Espectro Extendido (BLEE) o AmpC, incrementa el nivel de resistencia a estos antibióticos (6). Algunos investigadores han reportado que las bacterias con este tipo de resistencia hidrolizan preferentemente imipenem, en comparación con el ertapenem y meropenem (16). Por otro lado, otros investigadores encontraron una mejor actividad frente al ertapenem (15), por lo que el tema resulta controversial y amerita ser dilucidado.

La prueba *gold standard* para detectar carbapenemasas OXA-48-like es la PCR y para determinar la variante se requiere el secuenciamiento del genoma completo (17). Sin embargo, en nuestro país y en diversas partes del mundo, los laboratorios de establecimientos de salud no cuentan con el equipamiento necesario ni con el personal especializado en biología molecular para realizar estas pruebas. Por ello, se requieren metodologías fenotípicas que sean más accesibles, tanto técnica como económicamente. La detección específica del tipo de carbapenemasa es necesaria para implementar vigilancia y control epidemiológico, tal como lo recomienda la OMS (18), así como para el tratamiento adecuado. Considerando que los nuevos antimicrobianos (ceftazidime/avibactam, imipenem/relebactam y cefiderocol) tienen efectos diferenciados sobre las diferentes carbapenemasas. De este modo, las dos primeras son efectivas frente a las OXA-48-like y las serincarbapenemasas, pero no tienen actividad inhibitoria o su actividad es limitada frente a MBLs, a diferencia de cefiderocol cuya actividad antimicrobiana incluye a las MBLs (19). Diversos estudios, realizados fuera del Perú, han evaluado métodos fenotípicos para la detección de carbapenemasas OXA-48-like. Estas metodologías se han aplicado en regiones geográficas diferentes a la nuestra, con variantes alélicas y

determinantes epidemiológicos diversos. Considerando que la introducción de una metodología diagnóstica en una región específica requiere una evaluación previa para conocer su nivel de desempeño en el contexto particular, es necesario evaluar tales métodos de diagnóstico para identificar su efectividad.

En respuesta a lo anterior, se realizó este estudio con el objetivo de evaluar el desempeño de 13 metodologías fenotípicas para la identificación de Enterobacterales productoras de carbapenemasas OXA-48-like. Seis de estas metodologías estaban dirigidas a identificar la producción de carbapenemasas en general y las otras siete se enfocaron en realizar una detección específica de las OXA-48-like. Además, se evaluó la MIC frente a imipenem, meropenem y ertapenem de las cepas en estudio para dilucidar su comportamiento ante estos antimicrobianos.

II. OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar el desempeño de métodos fenotípicos para la detección de carbapenemasa OXA-48-like en Enterobacterales.

Objetivos específicos:

1. Determinar la sensibilidad y especificidad de las pruebas para la detección de carbapenemasas OXA-48-like en Enterobacterales, tomando como *gold standard* la PCR
2. Determinar la concentración mínima inhibitoria poblacional (MIC₅₀ y MIC₉₀) frente a imipenem, meropenem y ertapenem de las cepas productoras de OXA-48-like y compararlos con las no productoras.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio

La presente investigación es un estudio de evaluación de métodos de diagnóstico.

Población y muestra

El estudio incluyó 159 Enterobacterales, de los cuales 117 aislamientos eran productores de carbapenemasa OXA-48-like pertenecientes al Laboratorio de Resistencia Antimicrobiana y Fagoterapia - LID - UPCH. Estos procedieron del estudio madre titulado “Prevalencia, caracterización genómica y Evaluación de Métodos de identificación de carbapenemasas OXA-48-like en Hospitales de Lima Metropolitana: Un estudio Multicéntrico” aprobado por Comité de ética mediante el documento CAR-DUARI-160-23. Los 42 aislamientos restantes correspondían a Enterobacterales negativos para OXA-48-like confirmados mediante secuenciamiento del genoma completo por el Laboratorio de Genómica Microbiana - LID - UPCH.

Identificación molecular de las carbapenemasas

Las 117 cepas productoras de OXA-48-like fueron sometidas a extracción de DNA con el kit GeneJet (Thermo Fisher, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. Posteriormente se realizó un PCR múltiplex con *primers* para *mcr-1*, NDM, IMP, KPC y OXA-48-Like, siguiendo el protocolo de Hatrongjit y col. (20). Esto se llevó a cabo en un termociclador de la marca Analytik jena - Alemania. Posterior a ello, se realizó una corrida electroforética en gel agarosa al 2% con un voltaje de 100 v por 30 minutos, con ayuda de cámaras de electroforesis y fuentes de poder (Clever Scientific, Reino Unido). Finalmente, se realizó la lectura en un fotodocumentador de la marca Cleaver Scientific, Reino Unido (Figura 1). La caracterización molecular de las 42 cepas restantes fue realizada por el laboratorio de origen.

Confirmación de la identificación bacteriana

La identificación a nivel de género y especie de los 117 aislamientos productores de OXA-48-like se realizó mediante el sistema Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS - bioMérieux, Francia). La identificación bacteriana de las 42 cepas restantes fue tomada de la base de datos del WGS brindada por el Laboratorio a cargo.

Identificación fenotípica de carbapenemasas en general

Los aislamientos bacterianos fueron sometidos a 6 métodos fenotípicos de detección de carbapenemasas que se describen a continuación. Los medios de cultivo y los discos empleados fueron de la marca OXOID, USA.

1. Prueba de Triton Hodge (THT)

Se siguió lo recomendado por el servicio de Antimicrobianos del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI) - ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” (21). Esta prueba se fundamenta en la adición de tritón, al agar MH, con el objetivo de permeabilizar las bacterias, de manera que, la enzima quede libre y pueda tener una mejor actividad sobre el carbapenémico. Si hay presencia de carbapenemasas, habrá un sobrecrecimiento de la *E.coli* ATCC 25922 (Figura 2). Se añadió y distribuyó, con un hisopo estéril, 50 µl de Triton X -100 (MERCK, USA) en una placa de Agar Müller Hinton (MH). Luego se sembró la cepa *E. coli* ATCC 25922 a una concentración 0.5 de la escala de McFarland. En el centro de la placa se colocó un disco de ertapenem (10 µg). Con un asa estéril se tomó de 3 a 5 colonias del aislamiento problema, previamente incubados por 18 a 24 horas y se realizó una estría desde el borde del disco hasta el final de la placa. Se incubó a 35-37°C durante 16-18 horas.

2. Prueba Carba NP directo

Se siguieron las recomendaciones del Servicio de Antimicrobianos del INEI -

ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” (22). Esta prueba se fundamenta en el cambio de color de la solución inicial debido a la hidrólisis del carbapenémico. Se preparó la solución control (solución A) que contenía rojo de fenol 0.05% (VWR Chemicals,USA), sulfato de zinc a 0.1 mmol/L (Duksan, Korea) y tritón X-100 al 0.1% v/v ajustado a un pH de 7.8. La solución B constó de imipenem – cilastatina (Imanen - OQpharmaceutical) a 12 mg/ml. En dos tubos eppendorf, se colocó 100 µl de la solución A y B. Posterior a ello se inoculó 1 µl de cultivo fresco en cada tubo y se dejó incubar a 35°C por 2 horas. Se consideró positivo al cambio de color de rojo a amarillo o anaranjado y un resultado negativo cuando se mantenía el color rojo (Figura 2).

3. Prueba Blue Carba

Se siguió el protocolo del Servicio Antimicrobianos del INEI - ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” (23), pero con una modificación en el antibiótico añadido (6mg/ml imipenem - cilastatina) (24). Esta prueba también se fundamenta en el cambio de color de la solución inicial debido a la hidrólisis del carbapenémico. Se preparó la solución A que contenía indicador azul de bromotimol al 0.04% (MERCK, USA) y sulfato de zinc a 0.1 mmol/L ajustado a un pH de 7.0. La solución B constaba de imipenem - cilastatina a 6 mg/ml. Para cada cepa se utilizó 2 tubos Eppendorf donde se colocó 100 µl de la solución A y B. Se inoculó 5 µl de cultivo fresco en cada uno de los tubos y finalmente se incubó a 35°C por 2 horas. Se consideró positiva a carbapenemasa si hubo un cambio de color de azul a amarillo o verde y negativa si se mantenía el color (Figura 2).

4. Método de inactivación de carbapenémicos modificado (mCIM)

Se siguió los criterios establecidos por el CLSI-M100 – edición 34 (25). Es una metodología en el que se inactiva al carbapenémico en una primera incubación, para que en una segunda incubación se verifique con el crecimiento de la *E. coli*

ATCC 25922. En un tubo Eppendorf con 2 ml de caldo soya tripticasa (TSB) se inoculó 1µl de cultivo fresco. Se agitó de 10 a 15 segundos en un vortex, para luego adicionar un disco de meropenem (10 µg) e incubar por 4 horas a 35 °C. Posteriormente, el disco de meropenem fue extraído y colocado en una placa agar MH sembrada con *E. coli* ATCC 25922 (0.5 McFarland). Finalmente se incubó a 35°C durante 18 - 24 horas. Se consideró carbapenemasa positiva a un halo de inhibición entre 6 - 15 mm y cuando existía presencia de colonias dentro de 16 - 18 mm. Un resultado negativo se consideró a un halo de inhibición \geq 19 mm. Un resultado indeterminado a un halo de 16 - 18 mm y cuando el halo era \geq 19 mm con colonias internas (Figura 2).

5. Método de inactivación de carbapenémicos (CIM)

Se siguió el protocolo planteado por Kim y col. (26). Esta metodología tiene el mismo fundamento del mCIM, pero se realiza en un menor tiempo. Se colocó una asada de 10 µl de la cepa en estudio en un criovial con 400 µl de solución salina fisiológica. Se agitó en vortex y colocó un disco de meropenem (10 µg). Se incubó a 35°C por 2 horas. Después, el disco de meropenem fue extraído y colocado en una placa de agar MH sembrada con *E. coli* ATCC 25922 (0.5 McFarland). Finalmente se incubó a 35°C durante 8 horas. Se consideró carbapenemasa positiva a un halo de inhibición 6 - 15 mm y cuando existía presencia de colonias dentro de 16 - 18 mm. Un resultado negativo a un halo de inhibición \geq 19 mm. Un resultado indeterminado a un halo de 16 - 18 mm y cuando el halo fue \geq 19mm con colonias internas (Figura 2).

6. Método de Detección rápida de carbapenemasa (rCDM)

Se siguió el protocolo de Jing y col. (27). Esta metodología se fundamenta en el aumento de diámetro del halo de inhibición del disco de imipenem, tras una hidrólisis producida por la bacteria impregnada en el disco. La profundidad del

agar MH utilizado es menor a lo usual, por lo que se compensa con una mayor concentración de la *E.coli* ATCC 25922. Este consistió en sembrar la *E. coli* ATCC 25922, a una concentración equivalente del 3 McFarland, en agar MH. Seguidamente se colocó un disco de imipenem (10 µg) y otro disco de imipenem impregnado con 1 - 3 colonias de la cepa en estudio. Se incubó de 5 a 6 horas a 35°C. Se consideró un resultado positivo cuando la diferencia de halos de inhibición entre imipenem e imipenem inoculado con la cepa problema fue de 5 mm o mayor a este valor, un resultado negativo cuando la diferencia fue menor de 3 mm y un resultado indeterminado cuando la diferencia oscilaba entre 3-5 mm (Figura 2).

Identificación fenotípica de Carbapenemasas OXA – 48 – Like

1. Disco temocilina en agar MH

Esta metodología se fundamenta en la gran capacidad de las OXA-48-like de hidrolizar la temocilina. El disco de temocilina (30µg) se colocó en agar MH, sembrada previamente con la cepa en estudio (0,5 McFarland). Se incubó a 35 °C durante 18-24 horas. Para la interpretación de los resultados se tomó en cuenta lo recomendado por EUCAST (28) que corresponde a una zona de inhibición < 11 mm, presuntivo para carbapenemasa OXA-48-like (Figura 2).

2. Resistencia piperacilina-tazobactam/ertapenem (TZP - ETP)

Se tomó en consideración lo planteado por Lutgring y col (29), que evaluaron la resistencia tanto para piperacilina- tazobactam (110µg) y ertapenem como un screening de carbapenemasas OXA-48-like. Se realizó disco difusión para piperacilina-tazobactam y MIC para el ertapenem (RPI, USA). La interpretación de los resultados se realizó siguiendo los criterios del CLSI - M100 (25).

3. Resistencia a piperacilina- tazobactam/temocilina (TZP - TEM)

Se consideró lo planteado por Findlay y col (30), quienes reportaron que la

resistencia conjunta de piperacilina- tazobactam y temocilina eran sospecha de OXA-48-like. El disco de piperacilina-tazobactam (110µg) y temocilina (30µg) se colocaron sobre agar MH sembrada con la cepa en estudio al 0.5 McFarland. Se incubó a 35 °C durante 18-24 horas. Para su interpretación, se consideró los puntos de corte del CLSI-M100 (25) y EUCAST (28).

4. Disco OXA-48

Se siguió el protocolo planteado por Tsakris y col. (31). Se usó 3 discos de sensibilidad; un disco de imipenem (10 µg), un disco blanco con 10 µL de EDTA al 0.1M (MERCK, USA) y un disco blanco con 10 µL de EDTA al 0.1M y 10 µL de ácido fenil borónico (AFB) a 60 mg/ml (Sigma-Aldrich,USA). El EDTA funciona como un permeabilizador de las bacterias e inhibe a las metalobetalactamasas, y el AFB inhibe a KPC. Como las OXA-48-like no son inhibidas por ninguna de estas, mantiene su actividad, permitiendo así el crecimiento de la *E.coli* ATCC 25922.

En una placa de agar MH, se sembró la *E. coli* ATCC 25922. En el centro de la placa se colocó el disco de imipenem y a los costados los discos de EDTA y EDTA-AFB impregnados con la cepa en estudio (2 - 3 colonias). Se dejó incubar por 24 horas a 35°C. Se consideró un resultado positivo a la presencia de distorsión del halo de inhibición del imipenem hacia ambos discos adyacentes y un resultado negativo a la ausencia de este (Figura 2).

5. Disco HI OXA-48

Se consideró la modificación planteada por Koroska y col (32). Esta metodología fue similar a la del disco OXA-48, pero difiere en el número de colonias que cubren los discos de EDTA y EDTA-AFB. En este caso, se requirieron 5-6 colonias de la cepa en estudio (Figura 2).

6. Disco combinado temocilina-avibactam.

Se siguió el protocolo de Huang y colaboradores (33). Esta metodología se fundamenta en la capacidad del avibactam de inhibir a las OXA-48-like. Por lo que el halo de inhibición de temocilina aumenta.

Se sembró la cepa en estudio al 0,5 McFarland en agar MH. Seguidamente, se colocó sobre este un disco de temocilina (30 µg) y otro de temocilina suplementado con 5 µg de avibactam (Ambeed,USA). Finalmente, se incubó a 35 °C durante 18 - 24 horas. La carbapenemasa OXA-48-like se detectó cuando la diferencia de halos era de 8 mm a más (Figura 2).

7. Disco temocilina en agar MH suplementado con cloxacilina (MH-CLX)

Se consideró lo mencionado por Maurer y col. (34). El agar MH se suplementó con cloxacilina (Normon, España) a una concentración del 0.25 mg/ml. Posterior a ello, se colocó el disco de temocilina (30 µg) sobre el agar MH-CLX, sembrada previamente con la cepa en estudio (0,5 McFarland). Se incubó a 35 °C durante 18 - 24 horas. La formación de una zona de inhibición de temocilina <11 mm de diámetro se consideró positiva (Figura 2).

Determinación de la MIC para imipenem, meropenem y ertapenem.

Se utilizó imipenem (MEDCHEM, USA), meropenem (MERCK, USA) y ertapenem (RPI, USA) puros en polvo. La solución stock de los antibióticos carbapenémicos se preparó siguiendo los procedimientos establecidos por el CLSI - M07 (35). Esta solución antibiótica se guardó en alícuotas a -20°C hasta su uso. La prueba se realizó por el método de microdilución en placa de ELISA, para lo cual se prepararon diluciones seriadas del antibiótico con caldo MH ajustado a cationes (Becton, Dickinson and Company, USA). Se empleó como inóculo de la cepa en estudio, una dilución 1:20 de un tubo con turbidez equivalente al 0.5 Mcfarland. Se dispensaron 10µl en cada pocillo, excepto en los controles negativos y de antibiótico. Se incubó por 18 - 20 horas a 35 ± 2 °C. Se consideró la MIC

como la concentración de antibiótico más baja que inhibió el crecimiento visible de la bacteria (Figura 3).

El análisis de la MIC se dividió en tres grupos: 113 aislamientos con OXA-48-like, 9 con OXA-48-like + NDM o solo NDM, y 37 no productoras de carbapenemasa. Se calculó la MIC₅₀ y MIC₉₀ de meropenem, ertapenem e imipenem en los tres grupos. También, se clasificó como sensible, intermedio y resistente, de acuerdo a los criterios de CLSI y EUCAST.

Análisis estadístico

La información obtenida fue organizada en un documento Excel, versión 2108, para su análisis. Se determinó la frecuencia de acuerdo al mecanismo de resistencia y género - especie. En el programa STATA, versión 17, se calculó la sensibilidad y especificidad, con un intervalo de confianza de 95%, de cada una de las 13 metodologías fenotípicas. Así como, el coeficiente Kappa, para determinar la concordancia con la PCR. Finalmente, se realizó la prueba estadística no paramétrica Kruskal-Wallis para determinar si había una diferencia significativa entre las MICs.

Aspectos éticos

El presente proyecto fue registrado en el Sistema Descentralizado de Información y Seguimiento a la Investigación (SIDISI) - Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología (DUICT). Previo a su ejecución se presentó una solicitud al Comité de Ética de la UPCH (CIE-UPCH) y se obtuvo la aprobación mediante el documento CAR-DUARI-O-97-24.

IV. RESULTADOS

Identificación molecular de las carbapenemasas

De un total de 159 aislamientos, 117 (73.6%) fueron productores de OXA-48-like y los 42 (26.4%) aislamientos restantes negativos a este mecanismo de resistencia. El PCR multiplex determinó que de los aislamientos productores de OXA-48-like, 4 (3.4%) eran adicionalmente productores de NDM (Tabla 1).

Confirmación de la identificación bacteriana

El sistema MALDI-TOF identificó que de los 117 aislamientos productores de OXA-48-like, 81 (69.2%) fueron *Escherichia coli* y 32 (27.4%) *Klebsiella pneumoniae*, como se observa en la tabla 2.

Identificación fenotípica de carbapenemasas en general

Las pruebas que mostraron una mejor sensibilidad (99.2%) y especificidad (100%) fueron el CIM y el rCDM. Respecto al THT, obtuvo una alta sensibilidad (99.2%) igual que las dos pruebas anteriores. Sin embargo, su especificidad fue del 89.2%. En el análisis del mCIM, se obtuvo una buena sensibilidad del 94.3% y una especificidad del 100%. Finalmente, haciendo referencia a las pruebas colorimétricas, el Blue Carba mostró mayor sensibilidad (98.4%) y menor especificidad (94.6%) en comparación con el Carba NP Direct (97.5% y 100%, respectivamente) (Tabla 3). Cabe resaltar que todas estas pruebas mostraron una elevada concordancia con la PCR (Tabla 3).

Identificación fenotípica de Carbapenemasas OXA – 48 – Like

La temocilina en agar MH, considerado un predictor de la presencia de OXA-48-like, obtuvo la sensibilidad más alta (94.0%) comparado con TZP/TEM (93.2%) y TZP/ETP (83.8%). Además, mostró una concordancia fuerte con la PCR (coef. Kappa = 0.87). Por otro lado, la especificidad más baja la tuvo el TZP/EPT con un 97.3% y un nivel de concordancia de 0.69 con el PCR (Tabla 4).

Tanto la prueba Disco OXA-48 como la de Disco HI OXA-48 mostraron una especificidad del 100%. Sin embargo, el Disco HI OXA-48 fue superior en sensibilidad (82.9%) que el Disco OXA-48 (47.0%). La prueba de Disco combinado temocilina/avibactam mostró una sensibilidad del 84.6% y temocilina en MH-CLX presentó una mejor sensibilidad del 86.3% con una especificidad del 100% (Tabla 4). Adicionalmente se determinó que el disco HI-OXA, TEM en MH/CLX y TEM/AVI mostraron un nivel de concordancia moderada respecto al PCR con valores de coeficientes Kappa de 0.71, 0.75 y 0.72, respectivamente.

Determinación de la MIC para imipenem, meropenem y ertapenem.

Las medianas de la MIC para meropenem, ertapenem e imipenem mostraron una diferencia significativa ($p < 0.001$) entre las OXA-48-like y las cepas no productoras de este mecanismo de resistencia.

1. Primer grupo

En la tabla 5 se observa que la MIC para meropenem, ertapenem e imipenem varió entre 0.03125 - 32 $\mu\text{g/ml}$, 0.03125 - 256 $\mu\text{g/ml}$ y 0.25 - 128 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente. Una concentración del 0.125 $\mu\text{g/ml}$ de meropenem inhibió a más del 50% (MIC50) de las cepas productoras de OXA-48-like. Y una concentración de 8 $\mu\text{g/ml}$ inhibió al 90% (MIC90). Por otro lado, el MIC50 para ertapenem e imipenem fue 1 $\mu\text{g/ml}$ y 2 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente. Y el MIC90, 64 $\mu\text{g/ml}$ y 32 $\mu\text{g/ml}$. Asimismo, se evidenció que la mayor cantidad de aislamientos muestran un MIC de 0.125 $\mu\text{g/ml}$ (40.7%), 1 $\mu\text{g/ml}$ (40.7%) y 2 $\mu\text{g/ml}$ (47.8%) para meropenem, ertapenem e imipenem, en ese orden (figura 4). Mediante la prueba no paramétrica Kruskal - Wallis se determinó una diferencia significativa entre las medianas de los tres carbapenémicos ($p < 0.001$).

2. Segundo grupo

La MIC para meropenem, ertapenem e imipenem osciló entre 8 - 64 $\mu\text{g/ml}$, 4 - 128

$\mu\text{g/ml}$ y 8 - 64 $\mu\text{g/ml}$. El MIC50 tanto para meropenem y ertapenem fue de 32 $\mu\text{g/ml}$. Mientras que el MIC90 para meropenem fue 64 $\mu\text{g/ml}$ y para ertapenem, 128 $\mu\text{g/ml}$. Por último, el MIC50 de imipenem resultó 16 $\mu\text{g/ml}$ y el MIC90, 64 $\mu\text{g/ml}$. Por otro lado, se mostró que el 44.4% de los aislamientos tenían un MIC de 32 $\mu\text{g/ml}$ para meropenem; el 66.7%, 32 $\mu\text{g/ml}$ para ertapenem; y un 55.6%, 16 $\mu\text{g/ml}$ para imipenem (Tabla 5 y Figura 4).

3. Tercer grupo

En cuanto a las MICs de meropenem, ertapenem e imipenem variaron entre 0.03125-0.5 $\mu\text{g/ml}$, 0.015625-8 $\mu\text{g/ml}$, 0.0625-8 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente. El MIC50 para meropenem y ertapenem fue de 0.03125 $\mu\text{g/ml}$, pero el MIC90 difirió para ambos antibióticos con concentraciones del 0.0625 $\mu\text{g/ml}$ y 0.5 $\mu\text{g/ml}$, en ese orden. Para imipenem, el MIC50 fue de 0.25 $\mu\text{g/ml}$ y el MIC90 de 2 $\mu\text{g/ml}$. El 89.2% mostró una MIC del 0.03125 $\mu\text{g/ml}$ para meropenem; el 48.7%, 0.015625 $\mu\text{g/ml}$ para ertapenem y el 35.1%, 0.25 $\mu\text{g/ml}$ para imipenem. (Tabla 5 y figura 4).

En la tabla 6 se puede observar la frecuencia de resistencia y susceptibilidad a carbapenémicos tomando en consideración los puntos de corte del CLSI y EUCAST. De acuerdo a las categorías de interpretación del CLSI, se determinó que 14.2% de aislamientos productores de solo OXA-48-like fueron no susceptibles a meropenem. Mientras que, según EUCAST, el 36.3% fueron resistentes. Respecto a ertapenem, el 85% fueron no susceptibles y el 97.4% resistentes, de acuerdo al CLSI y EUCAST respectivamente. En el caso de los aislamientos productores de OXA-48-like + NDM o solo NDM, el 100% fueron resistentes a meropenem y ertapenem considerando los criterios tanto del CLSI y EUCAST. Finalmente, el 94.6% y 67.6% las cepas no productoras de carbapenemasas fueron sensibles a meropenem y a ertapenem, respectivamente, según EUCAST.

V. DISCUSIÓN

El primer reporte de un aislamiento productor de OXA-48-like se dio en Turquía en el 2001 (6). Posteriormente, se extendió a diversas regiones, convirtiéndose en zonas endémicas. Un estudio evidenció que no se encontraron enterobacteriales productores de OXA-48-like en el Perú durante el 2019 (36). Otro estudio publicado en el 2023 encontró 5 enterobacteriales productores de este mecanismo de resistencia durante 2019 - 2021, todos con la variante OXA-181 (12). Los reportes de enterobacteriales con OXA-48-like en el Perú (12,13,14,15) muestran que estos aislamientos no estaban acompañados de otro tipo de carbapenemasa. Sin embargo, en el 2021, el MINSA reportó una alerta epidemiológica sobre una cepa inusual de *Escherichia coli* productora de OXA-48-like y NDM en Arequipa (37). En el presente estudio se encontró 4 cepas (3.4%) con doble carbapenemasa dentro de los aislamientos productores de OXA-48-like, específicamente OXA-48-like + NDM. Según un estudio, la co-expresión de OXA y NDM constituyen altos índices de mortalidad (38)

A nivel mundial, diversos estudios epidemiológicos (39,40) han documentado una alta prevalencia del género *Klebsiella* como principal productor de OXA-48-like, seguido del género *Escherichia*. A diferencia de estos hallazgos, en este estudio, la *Escherichia coli* (69.2%) fue más frecuente que *Klebsiella pneumoniae* (27.4%). Esto evidencia que la distribución de aislamientos varía de acuerdo al contexto regional.

Los métodos fenotípicos convencionales para la detección de carbapenemasas permiten diferenciar las de clase A y clase B, pero no las de clase D (OXA-48-like), debido a que no son inhibidas por el AFB o EDTA (6). Por otro lado, las OXA-48-like presentan una limitada actividad hidrolítica frente a los carbapenémicos, lo que complica aún más su identificación (6). Por lo que existe la necesidad de evaluar

métodos para su adecuada detección. El procedimiento de identificación de este mecanismo de resistencia implica, en primer lugar, la detección de la enzima carbapenemasa, para luego detectar específicamente la carbapenemasa OXA-48-like.

Para la detección de carbapenemasas, uno de los métodos evaluados fue el THT, que surge de la modificación del Test de Hodge Modificado (MHT). Este utiliza Triton X-100 como permeabilizador de los aislamientos bacterianos para facilitar su detección (41). Pasteran y colaboradores (41), determinaron que el THT con disco de ertapenem tenía una sensibilidad superior (99%) al del MHT (72%), mientras que su especificidad fue baja (87.5%) debido a falsos positivos por la presencia de BLEE y/o AmpC con pérdida de porina. En el presente estudio, el THT tuvo una sensibilidad del 99.2% y una especificidad del 89.2%, resultados similares a lo reportado por Pasteran y col.

Otra metodología evaluada fue Carba NP directo, la cual es más económica comparada al Carba NP Test, además de utilizar colonias directas de cultivo (6). Pasteran y col. determinaron para ambas pruebas una especificidad de 100%. Sin embargo, el Carba NP directo mostró una mejor sensibilidad del 98% frente a un 84% del Carba NP Test (42). Otro estudio realizado en el 2020 determinó que la sensibilidad del Carba NP directo (83.3%) era superior al de Carba NP test (75.9%) (43). Sin embargo, ambas mostraron problemas en detectar a las OXA-48-like. Es importante resaltar que en el presente estudio, la prueba Carba NP directo tuvo una excelente sensibilidad del 97.5% y una especificidad del 100%, lo que difiere de los reportes previos de limitaciones en la detección de carbapenemasas OXA-48-like, convirtiendo a esta prueba en una excelente alternativa por la ventaja adicional de la rapidez en la emisión de los resultados.

El tercer método evaluado fue el Blue Carba. El primer estudio reportado de este,

obtuvo una sensibilidad y especificidad del 100%, donde se incluyeron 12 enterobacteriales productores de OXA-48-like (44). Un estudio posterior a este evidenció que el Blue Carba tuvo inconvenientes en detectar a las OXA-48-like (24). Ellos recomendaron un estudio en el que se incluya una mayor cantidad de aislamientos. En el presente estudio incluimos 117 aislamiento productores de OXA-48-like, obteniendo una sensibilidad y especificidad del 98.4% y 94.6%, respectivamente.

Respecto a las pruebas CIM y mCIM, la diferencia entre ellos radica en el tiempo de ejecución y lectura, 10 horas para el CIM y 24 horas para el mCIM (6). Un estudio en el 2015 encontró que el CIM era 100% concordante con la PCR para detectar carbapenemasas (26). Otro estudio reportó que el mCIM era superior en sensibilidad (98%) comparado con el CIM (91%), además, que el mCIM detectó el 100% de aislamientos OXA-48-like, en cambio el CIM logró detectar solo al 80% de estos (45). Debido al mejor desempeño del mCIM, el CLSI decidió realizar una validación obteniendo una sensibilidad del 99% y especificidad del 100% (46). No obstante, en el presente estudio el mCIM obtuvo una menor sensibilidad (94.3%) comparado con el CIM (99.2%).

El último método para detectar carbapenemasas fue el rCDM, que necesita solo de 6 horas para su ejecución y lectura (27). Un estudio obtuvo una sensibilidad del 100% y especificidad del 99.8% (27). Otro estudio realizado en una zona endémica de OXA-48-like llegó a la conclusión que el rCDM tenía un 100% de sensibilidad (47). Muy similar a estos resultados, en el presente estudio, se obtuvo una sensibilidad del 99.2% y especificidad del 100%, que también convierte a esta prueba en una excelente alternativa dada la rapidez de la respuesta.

Respecto a los métodos específicos para detectar OXA-48-like, aún no son muy difundidos en los laboratorios de nuestro medio, lo que probablemente esté

conllevando a un subregistro de este mecanismo de resistencia. EUCAST recomienda utilizar un punto de corte < 11 mm para temocilina, como un screening de las OXA-48-like (28). Por otro lado, Lutgring y col, encontraron que las carbapenemasas OXA-48-like eran resistentes tanto a ertapenem como a piperacilina-tazobactam (29), así como también un estudio realizado en Perú (15). Otro estudio desarrollado por Findlay y col. (30), utilizaron como prueba de screening la resistencia a piperacilina/tazobactam y temocilina. En el presente estudio, la prueba con temocilina es la que mostró una mejor sensibilidad (94.0%) y especificidad (100%), lo que es necesario resaltar, pues esta prueba ha sido considerada solo como un predictor de este mecanismo de resistencia.

Tsakris y col (31) evaluaron una nueva prueba denominada Disco OXA-48 con el fin de detectar específicamente a las OXA-48-like, encontrando una sensibilidad del 96.3% y especificidad del 97.7%. Sin embargo, en el estudio de Koroska y col (32) se evidenció que el desempeño del Disco OXA-48 dependía en gran medida del inóculo utilizado. Por lo que, decidieron modificar el protocolo aumentando el inóculo de 2-3 colonias a 5-6. A esta modificación le llamaron Disco HI OXA-48 que mostró una mayor sensibilidad (98.8%) comparado con el Disco OXA-48 (53.6%). En el presente estudio ambas metodologías mostraron una especificidad del 100%. Sin embargo, la sensibilidad en Disco HI OXA-48 fue superior al Disco OXA-48 (82.9% y 47.0% respectivamente).

Del mismo modo, Huang y col. (33) evaluaron la capacidad de discos combinados para detectar OXA-48-like. Observaron que tomando en consideración una diferencia de halos ≥ 8 mm entre temocilina y temocilina-avibactam se obtenía un mejor desempeño, alcanzando una sensibilidad del 97% y una especificidad del 93%. En el presente estudio, esta prueba logró una sensibilidad del 84.6% y especificidad del 97.6%. Si bien la sensibilidad observada fue inferior al

rendimiento reportado por Huang y col., la especificidad obtenida es consistente entre ambos estudios.

En un estudio realizado en 2014 (34), se señala que el uso de agar MH suplementado con cloxacilina y disco de temocilina mejoraba la detección, en términos de especificidad, en la detección de carbapenemasas OXA-48-like. Esto se debe a que la cloxacilina presente en el agar inhibe la actividad de AmpC, permitiendo disminuir la cantidad de falsos positivos. En el presente estudio, esta prueba mostró una sensibilidad del 86.3% y una especificidad del 100%.

Los aislamientos productores de carbapenemasas OXA-48-like presentan una MIC baja, debido a su limitada actividad hidrolítica frente a carbapenémicos, comparándolo con otros tipos de carbapenemasas (6). En el presente estudio se evidenció una diferencia significativa entre los MICs de las OXA-48-like y las NDM ($p < 0.001$). Mostrando, las OXA-48-like, un MIC₅₀ de 0.125, 1 y 2 µg/ml para meropenem, ertapenem e imipenem. En cambio, los NDM mostraron una MIC₅₀ de 32, 32 y 16 µg/ml, respectivamente. En un estudio realizado en Reino Unido se determinó que la gran mayoría de las cepas tenían una MIC de meropenem ≤ 2 µg/ml (9). A pesar que dentro del grupo de carbapenemasas OXA-48-like se muestra un perfil heterogéneo a los carbapenémicos, su MIC para imipenem oscila entre 1 – 4 µg/ml, para meropenem y ertapenem entre 0.06 – 1 µg/ml (48). En el presente estudio los rangos de meropenem, ertapenem e imipenem oscilaron entre 0.03 - 32 µg/ml (MIC₅₀/MIC₉₀ de 0.125 y 8 µg/ml), 0.03 - 256 µg/ml (MIC₅₀/MIC₉₀ de 1 y 64 µg/ml) y 0.125 - 128 µg/ml (MIC₅₀/MIC₉₀ 2 y 32 µg/ml) respectivamente, resultados no comparables con el estudio anterior. Los valores altos de MIC para cada carbapenémico puede deberse a que el mecanismo OXA-48-like estuvo acompañado de otra betalactamasa (BLEE y/o AmpC) o deficiencia de porinas (6),

información no evaluada en el presente estudio pues amerita otras metodologías de estudio como el WGS. En un estudio realizado en cepas recombinantes se logró determinar que los OXA-48-like aumentaban ligeramente su MIC frente a los carbapenémicos; sin embargo, la deficiencia de porinas elevaba los MICs hasta valores mayores a 256 $\mu\text{g/ml}$ (48). Similar a nuestros resultados, un estudio realizado en España (49), obtuvo una MIC₅₀ de 1 $\mu\text{g/ml}$ para imipenem y meropenem y 4 $\mu\text{g/ml}$ para ertapenem. Por otro lado, un MIC₉₀ de 8 $\mu\text{g/ml}$ para imipenem y meropenem y 64 $\mu\text{g/ml}$ para ertapenem. Este estudio determinó que el 65.6% y 77.7% de las cepas poseían CTX-M y SHV, respectivamente.

Las carbapenemasas OXA-48-like presentan una actividad diferenciada frente a los carbapenémicos. En nuestro estudio se evidenció una diferencia significativa entre las medianas de meropenem, ertapenem e imipenem ($p < 0.001$). Diversos estudios determinaron que la capacidad hidrolítica de las carbapenemasas OXA-48-like eran superiores para imipenem comparándolos con meropenem y ertapenem (48,50). Sin embargo, ante la alteración de porinas la MIC de ertapenem era la más elevada (48). Un estudio realizado en aislamientos coproductores de OXA-48-like con BLEE o AmpC (51), encontraron que fueron sensibles a imipenem y meropenem pero resistentes o intermedios a ertapenem. Asimismo, un estudio realizado en Perú encontró que los aislamientos productores de OXA-48-like presentaban una MIC $\geq 1\mu\text{g/ml}$ de ertapenem (15), es decir, intermedio a resistente tomando en cuenta los criterios del CLSI. En el presente estudio se determinó que el 85% de los aislamientos productores de OXA-48-like cumplían con el criterio $\geq 1\mu\text{g/ml}$ de ertapenem. Pero si tomamos en consideración los puntos de corte de EUCAST ($> 0.125\mu\text{g/ml}$) para sospechar la presencia de carbapenemasa (28), nuestro estudio detectó al 97.4% de estas cepas. Si bien el ertapenem con el criterio de EUCAST detectó un gran porcentaje de estas cepas, el 32.4% de cepas no productoras de

carbapenemasas fueron erróneamente clasificadas con este criterio. Estos resultados refuerzan que el ertapenem es un indicador muy sensible, pero con baja especificidad para detectar carbapenemasas (52). Por otro lado, en el caso del meropenem, solo se captaron 14.2% OXA-48-like con el CLSI y el 36.3% con el EUCAST. Resultados no comparables con estudios previos, los cuales mostraron una alta sensibilidad (34,52).

VI. CONCLUSIONES

1. Las metodologías para la detección de carbapenemasas en general mostraron un buen desempeño, en términos de sensibilidad y especificidad, frente a los aislamientos productores de carbapenemasa OXA-48-like. La rCDM y CIM son las pruebas que mejor desempeño mostraron.
2. Las pruebas para detección específica de OXA-48-like obtuvieron resultados heterogéneos. Siendo la prueba Disco OXA-48 quien mostró una baja concordancia con la PCR. El disco TEM en agar MH demostró un desempeño superior.
3. La diferencia de las MICs, entre las cepas productoras de solo OXA-48-like y las no productoras, es significativa. Los MIC₅₀ de OXA-48-like eran bajos comparados a los MIC₅₀ que poseían los NDM. Algunos MICs elevados de las carbapenemasas OXA-48-like pueden deberse a la presencia adicional de BLEE, AmpC o deficiencia de porina, datos no evaluados en la presente investigación. Dentro de las OXA-48-like se evidenció una actividad diferenciada frente a los carbapenémicos, siendo el ertapenem un indicador de alta sensibilidad para la detección de este mecanismo de resistencia.

VII. LIMITACIONES

- El no contar con información del secuenciamiento del genoma completo de las OXA-48-like deviene en una limitación. Ya que, esta metodología molecular nos brinda mayor información de las cepas en estudio. De manera que, se determine si alguna variante en específico de las carbapenemasas OXA-48-like puedan alterar la sensibilidad de cada metodología.
- El tener bajo número de aislamientos no productores de carbapenemasas, tales como BLEE, AmpC y/o alteración en las porinas, que permitirían evaluar cómo afecta la especificidad de cada metodología.
- No se incorporó ensayos de reproducibilidad para la detección de OXA-48-like, debido a los costos que estos conllevan.

VIII. RECOMENDACIÓN

- De acuerdo a nuestros resultados, recomendamos utilizar la prueba rCDM para la identificación general de carbapenemasas, ya que el tiempo que se necesita para su ejecución y lectura es corta. Y el disco de temocilina en agar MH como una herramienta preliminar para la identificación de carbapenemasas OXA-48 - like.
- Sería valioso probar los métodos en escenarios clínicos para verificar su aplicabilidad en condiciones rutinarias de laboratorio y su impacto en la toma de decisiones terapéuticas.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jenkins C, Rentenaar R, Landraud L, Brisse S. Enterobacteriaceae [Internet]. [citado 30 de agosto de 2022]. Recuperado de <https://sci-hub.st/https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6285-8.00180-5>
2. Smith H, Kendall B. Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 [citado 31 de agosto de 2022]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551704/>
3. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Patógenos multirresistentes que son prioritarios para la OMS - OPS/OMS [Internet]. [citado 30 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/noticias/4-3-2021-patogenos-multirresistentes-que-son-prioritarios-para-oms>
4. World Health Organization (WHO). Guidelines for the prevention and control of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa in health care facilities [Internet]. World Health Organization; 2017 [citado 28 de agosto de 2022]. 74 p. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/259462>
5. Soontaros S, Leelakanok N. Association between carbapenem-resistant Enterobacteriaceae and death: A systematic review and meta-analysis. Am J Infect Control. 1 de octubre de 2019;47(10):1200-12.
6. Pitout J, Peirano G, Kock M, Strydom K, Matsumura Y. The Global Ascendency of OXA-48-Type Carbapenemases. Clin Microbiol Rev. 13 de noviembre de 2019;33(1):e00102-19.
7. Logan L, Weinstein R. The Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: The Impact and Evolution of a Global Menace. J Infect

- Dis. 15 de febrero de 2017;215(Suppl 1):S28-36.
8. Van Duin D, Doi Y. The global epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Virulence*. 11 de agosto de 2016;8(4):460-9.
 9. Boyd S, Holmes A, Peck R, Livermore D, Hope W. OXA-48-Like β -Lactamases: Global Epidemiology, Treatment Options, and Development Pipeline. *Antimicrob Agents Chemother*. 20 de julio de 2022;66(8):e00216-22.
 10. Naas T, Oueslati S, Bonnin R, Dabos M, Zavala A, Dortet L, Retailleau P, Iorga B. Beta-Lactamase DataBase (BLDB) – Structure and Function. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem*. 2017, 32, 917-919.
 11. García J, Appel T, Esparza G, Gales A, Levy Hara G, Cornistein W, et al. Update on the epidemiology of carbapenemases in Latin America and the Caribbean. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 19 de agosto de 2020;19.
 12. Cuicapuza D, Alvarado L, Tocasca N, Aguilar D, Gómez-de-la-Torre J, Salvatierra G, et al. First Report of OXA-181-Producing Enterobacteriales Isolates in Latin America. *Microbiol Spectr*. 6 de abril de 2023;0(0):e04584-22.
 13. Morales A, Ballena J, Sandoval R, Silva W, Pérez G. First Clinical Cases of OXA-48-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Peru. *Rev Cuerpo Méd Hosp Nac Almanzor Aguinaga Asenjo*. 14 de diciembre de 2021;14(3):379-82.
 14. Penagos M, Pons M. Descripción de una cepa de *Klebsiella pneumoniae* con gen blaOXA-48 en Lima-Perú. *Rev Cuerpo Méd Hosp Nac Almanzor Aguinaga Asenjo*. 30 de junio de 2022;15(2):306-7.
 15. Villanueva F, Mamani D, Ortiz T, Mallma K, Barron H. First Isolates of OXA-48-Like Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in A Specialized Cancer Center. *Infect Chemother*. Diciembre de 2022. 54(4):

765–773.

16. Boyd S, Holmes A, Pecka R, Livermore D, Hope W. OXA-48-Like β -Lactamases: Global Epidemiology, Treatment Options, and Development Pipeline. American society for Microbiology. [Internet]. [Citado 14 de diciembre de 2023]. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/epub/10.1128/aac.00216-22>
17. Noster J, Thelen P, Hamprecht A. Detection of Multidrug-Resistant Enterobacterales-From ESBLs to Carbapenemases. *Antibiot Basel Switz.* 21 de septiembre de 2021;10(9):1140.
18. Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS). Alerta Epidemiológica: Emergencia e incremento de nuevas combinaciones de carbapenemasas en Enterobacterales en Latinoamérica y el Caribe, 22 de octubre de 2021 - World | ReliefWeb [Internet]. [citado 26 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://reliefweb.int/report/world/alerta-epidemiol-gica-emergencia-e-incremento-de-nuevas-combinaciones-de-carbapenemasas>
19. Rincón A, Acevedo D, Chaparro D, Serrato KN. Nuevos inhibidores de betalactamasas: actualidad y aplicación en la práctica. *Hechos Microbiológicos.* 2021;12(1):41-55.
20. Hatrongjit R, Kerdsin A, Akeda Y, Hamada S. Detection of plasmid-mediated colistin-resistant and carbapenem-resistant genes by multiplex PCR. *MethodsX.* 25 de mayo de 2018;5:532-6.
21. Servicio de Antimicrobianos-INEI-ANLIS. “Dr. Carlos G. Malbran”. THT-protocolo.pdf [Internet]. [citado 22 de junio de 2023]. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2016/03/THT-protocolo.pdf>

22. Servicio de Antimicrobianos-INEI-ANLIS. “Dr. Carlos G. Malbran”. CARBA-NP-DIRECT-v3-21.pdf [Internet]. [citado 22 de junio de 2023]. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2015/12/CARBA-NP-DIRECT-v3-21.pdf>.
23. Servicio de Antimicrobianos-INEI-ANLIS. “Dr. Carlos G. Malbran”. BLUE-CARBA-.pdf [Internet]. [citado 22 de junio de 20223]. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2014/10/BLUE-CARBA-.pdf>
24. Pasteran F, Veliz O, Ceriana P, Lucero C, Rapoport M, et al. Evaluation of the Blue-Carba Test for Rapid Detection of Carbapenemases in Gram-Negative Bacilli. *J Clin Microbiol*. Mayo 2015; 53(6):1996-8.
25. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M100 - Performance standards for antimicrobial susceptibility testing [Internet]. 34 ed, 2024, Pennsylvania, [citado 12 de agosto de 2023]. Recuperado de CLSI M100 2024 (1).pdf
26. Van K, Haan A, Pluister G, Bootsma H, Neeling A, Schouls LM. The Carbapenem Inactivation Method (CIM), a Simple and Low-Cost Alternative for the Carba NP Test to Assess Phenotypic Carbapenemase Activity in Gram-Negative Rods. *PLoS ONE*. 23 de marzo de 2015;10(3):e0123690.
27. Jing X, Min X, Zhang X, Gong L, Wu T, Sun R, et al. The Rapid Carbapenemase Detection Method (rCDM) for Rapid and Accurate Detection of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Cell Infect Microbiol*. 6 de noviembre de 2019;9:371.
28. EUCAST subcommittee for detection of resistance mechanisms and

specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. July 2017. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance, version 2.0. Disponible en: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf.

29. Lutgring J, Zhu W, Man T, Avillan J, Anderson K, Lonsway D, et al. Phenotypic and Genotypic Characterization of Enterobacteriaceae Producing Oxacillinase-48-Like Carbapenemases, United States. *Emerg Infect Dis.* abril de 2018;24(4):700-9.
30. Findlay J, Hopkins K, Loy R, Doumith M, Meunier D, Hill R, et al. OXA-48-like carbapenemases in the UK: an analysis of isolates and cases from 2007 to 2014. *J Antimicrob Chemother.* 1 de mayo de 2017;72(5):1340-9.
31. Tsakris A, Poulou A, Bogaerts P, Dimitroulia E, Pournaras S, Glupczynski Y. Evaluation of a New Phenotypic OXA-48 Disk Test for Differentiation of OXA-48 Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae Clinical Isolates. *J Clin Microbiol.* abril de 2015;53(4):1245-51.
32. Koroska F, Göttig S, Kaase M, Steinmann J, Gatermann S, Sommer J, et al. Comparison of Phenotypic Tests and an Immunochromatographic Assay and Development of a New Algorithm for Detection of OXA-48-like Carbapenemases. *J Clin Microbiol.* marzo de 2017;55(3):877-83.
33. Huang T, Berhin C, Bogaerts P, Glupczynski Y. Evaluation of avibactam-supplemented combination disk tests for the detection of OXA-48 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Diagn Microbiol Infect Dis.* junio de 2014;79(2):252-4.

34. Maurer F, Castelberg C, Quiblier C, Bloemberg G, Hombach M. Evaluation of Carbapenemase Screening and Confirmation Tests with Enterobacteriaceae and Development of a Practical Diagnostic Algorithm. *J Clin Microbiol.* enero de 2015;53(1):95-104.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M07 - Methods for Dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically [Internet]. 12 ed, 2024, Pennsylvania [citado 13 de enero de 2025]. Recuperado de: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m07/>
36. Mayta M, Ramirez J, Pampa L, Yagui M, Mayta M, Ramirez J, et al. Caracterización molecular de carbapenemasas en el Perú durante el 2019. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* enero de 2021;38(1):113-8.
37. Instituto Nacional de Salud. Reporte técnico cód.IIH-005-21 "Presencia de dobles carbapenemasas en tres regiones del Perú, 2021". Oficio N° 1233-2021-DG-CNSP/INS.
38. Yuan P, Dai L, Zhang Q, Zhong Y, Liu W, Yang L, et al. Global emergence of double and multi-carbapenemase producing organisms: epidemiology, clinical significance, and evolutionary benefits on antimicrobial resistance and virulence. *Microbiol Spectr.* 12(7):e00008-24.
39. Rivera M, Láinez A, Rivera C, López J, Fernández N, Redruello P, et al. OXA-48 Carbapenemase-Producing Enterobacterales in Spanish Hospitals: An Updated Comprehensive Review on a Rising Antimicrobial Resistance. *Antibiotics.* enero de 2021;10(1):89.
40. Lee Y, Wang W, Ko W, Hsueh P. Global epidemiology and antimicrobial resistance of Enterobacterales harbouring genes encoding OXA-48-like carbapenemasas: insights from the results of the Antimicrobial Testing

- Leadership and Surveillance (ATLAS) programme 2018–2021. *J Antimicrob Chemother.* 1 de julio de 2024;79(7):1581-9.
41. Pasteran F, Gonzalez L, Albornoz E, Bahr G, Vila A, Corso A. Triton Hodge Test: Improved Protocol for Modified Hodge Test for Enhanced Detection of NDM and Other Carbapenemase Producers. *J Clin Microbiol.* marzo de 2016;54(3):640-9.
 42. Pasteran F, Tijet N, Melano R, Corso A. Simplified Protocol for Carba NP Test for Enhanced Detection of Carbapenemase Producers Directly from Bacterial Cultures. *J Clin Microbiol.* diciembre de 2015;53(12):3908-11.
 43. Kumudunie W, Wijesooriya L, Wijayasinghe Y. Comparison of four low-cost carbapenemase detection tests and a proposal of an algorithm for early detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in resource-limited settings. *PLoS ONE.* 12 de enero de 2021;16(1):e0245290.
 44. Pires J, Novais Â, Peixe L. Blue-Carba, an Easy Biochemical Test for Detection of Diverse Carbapenemase Producers Directly from Bacterial Cultures. *J Clin Microbiol.* diciembre de 2013;51(12):4281-3.
 45. Tamma P, Opene B, Gluck A, Chambers K, Carroll K, Simner P. Comparison of 11 Phenotypic Assays for Accurate Detection of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* abril de 2017;55(4):1046-55.
 46. Pierce V, Simner P, Lonsway D, Roe D, Johnson J, Brasso W, et al. Modified Carbapenem Inactivation Method for Phenotypic Detection of Carbapenemase Production among Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* agosto de 2017;55(8):2321-33.
 47. Çizmeçi Z. Detection of Carbapenemase Production in *Klebsiella pneumoniae* Isolates by Rapid Carbapenemase Detection Method in an

- OXA-48 Endemic Region. Jundishapur J Microbiol [Internet]. 2024 [citado 10 de enero de 2025];17(5). Disponible en: <https://brieflands.com/articles/jjm-146081#abstract>
48. Oueslati S, Nordmann P, Poirel L. Heterogeneous hydrolytic features for OXA-48-like β -lactamases. J Antimicrob Chemother. 1 de abril de 2015;70(4):1059-63.
49. Vázquez J, Seoane A, Rodiño B, González M, Conde K, Martínez M, et al. Activity of imipenem/relebactam against a Spanish nationwide collection of carbapenemase-producing Enterobacterales. J Antimicrob Chemother. 1 de junio de 2021;76(6):1498-510.
50. Poirel L, Héritier C, Tolün V, Nordmann P. Emergence of Oxacillinase-Mediated Resistance to Imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. enero de 2004;48(1):15-22.
51. Hoyos Y, Naas T, Bonnin R, Patino R, Glaser P, Fortineau N, et al. OXA-244-Producing *Escherichia coli* Isolates, a Challenge for Clinical Microbiology Laboratories. Antimicrob Agents Chemother. 24 de agosto de 2017;61(9):e00818-17.
52. Peirano G, Pitout J. Rapidly spreading Enterobacterales with OXA-48-like carbapenemases. J Clin Microbiol. 6 de enero de 2025;0(0):e01515-24

X. TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS

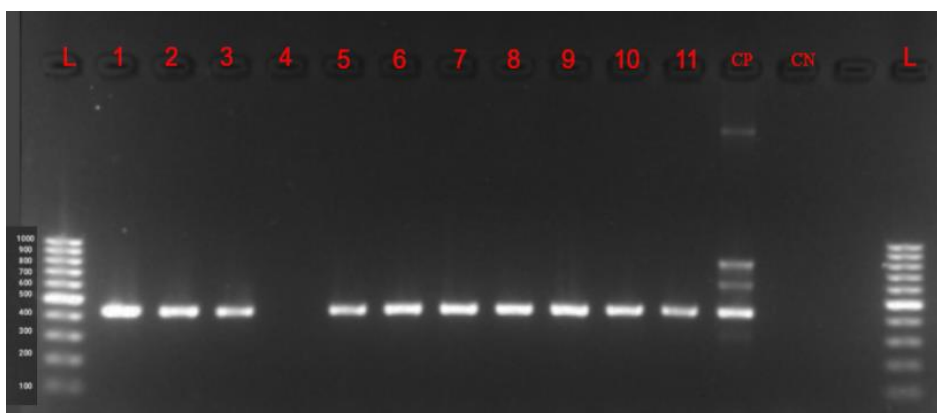


Figura 1. Lectura de la corrida electroforética del PCR múltiplex. Columnas L: marcador de peso molecular (100 - 1000 pb); CP: control positivo (OXA-48-like, NDM, KPC y mcr-1); CN: control negativo y columnas del 1 al 11: OXA-48-like (la columna 4 está vacío).

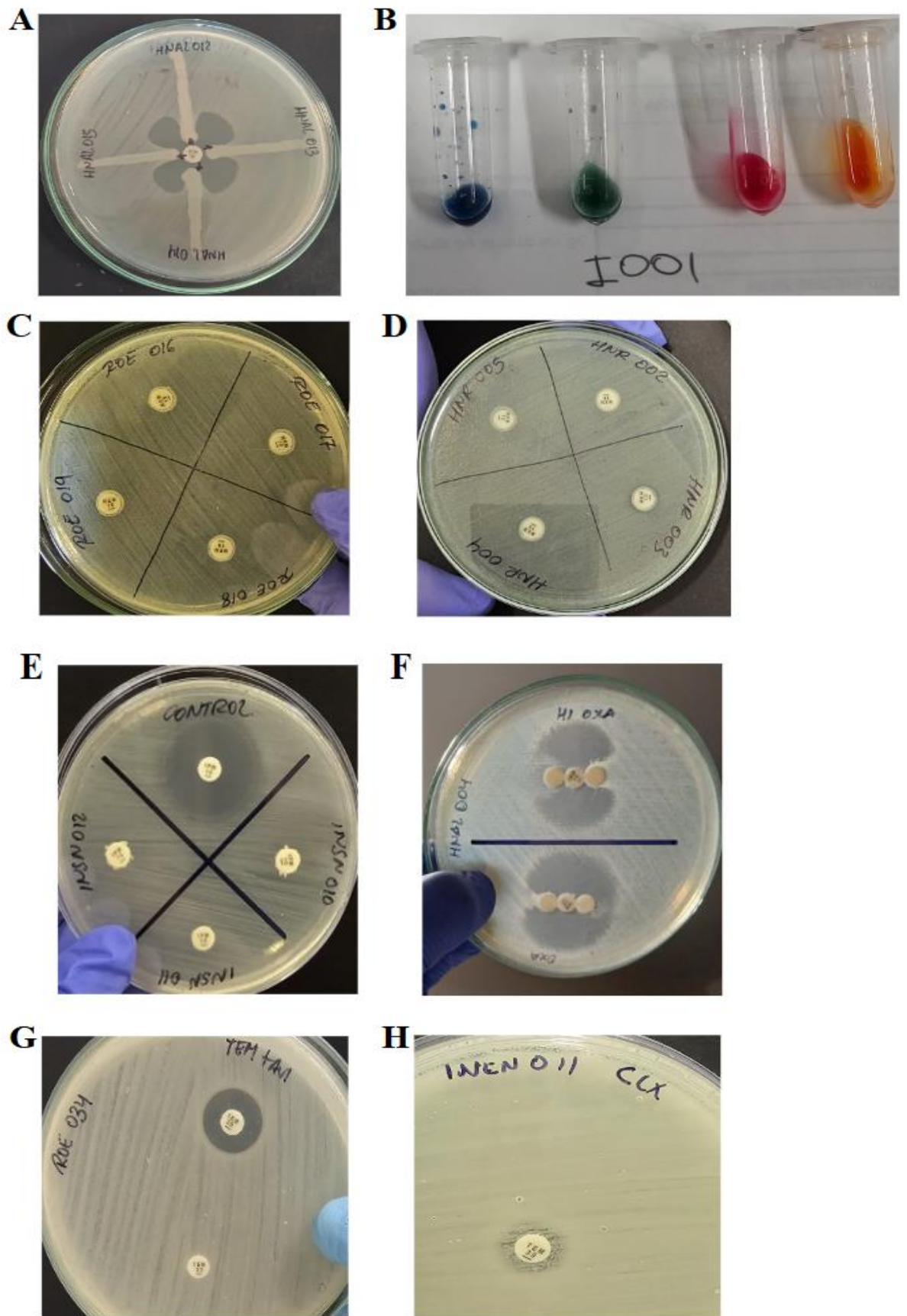


Figura 2. Resultados positivos de THT (A), Blue Carba y Carba NP directo (B), mCIM (C), CIM (D), rCDM (E), Disco OXA-48 y Disco HI OXA-48 (F), Disco combinado temocilina/avibactam (G) y Disco temocilina en agar MH-CLX.

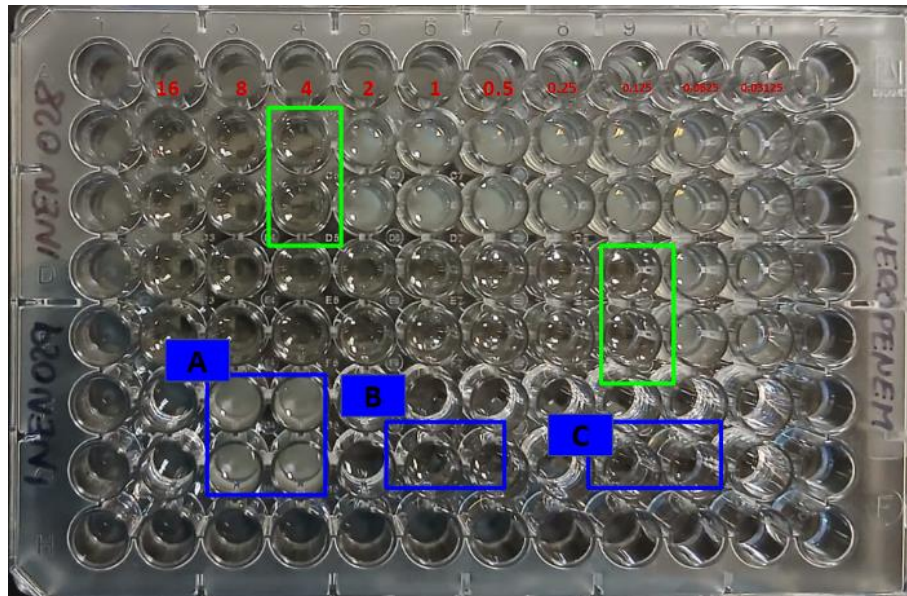


Figura 3. Concentración mínima inhibitoria (MIC) de meropenem. La cepa INEN-028 muestra un MIC de 4 $\mu\text{g/ml}$ y la cepa INEN-029 de 0.125 $\mu\text{g/ml}$. El recuadro A muestra los controles positivos de ambas cepas. El recuadro B, el control de antibiótico. Y el cuadro C, el control negativo.

Tabla 1. Frecuencias de acuerdo al mecanismo de resistencia

VARIABLES	N	%
<i>Mecanismo de resistencia</i>		
OXA-48-like Positivos	117	73.6
OXA-48-like Negativos	42	26.4
<i>TOTAL</i>	159	100
<i>OXA-48-like Positivos</i>		
Solo OXA-48-like	113	96.6
OXA-48-like + NDM	4	3.4
<i>TOTAL</i>	117	100
<i>OXA-48-like Negativos</i>		
NDM	5	11.9
AmpC	3	7.1
AmpC + BLEE	3	7.1
BLEE	8	19.1
BlaOXY	8	19.1
Ninguno	15	35.7
<i>TOTAL</i>	42	100

Tabla 2. Frecuencias de acuerdo al género - especie

VARIABLES	N	%
<i>OXA-48-like Positivo</i>		
<i>Escherichia coli</i>	81	69.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32	27.4
<i>Klebsiella aerogenes</i>	2	1.7
<i>Citrobacter koseri</i>	1	0.9
<i>Raoultella planticola</i>	1	0.9
TOTAL	117	100
<i>OXA-48-like Negativos</i>		
<i>Escherichia coli</i>	18	42.9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9	21.4
<i>Klebsiella michiganensis</i>	6	14.3
<i>Citrobacter freundii</i>	4	9.5
<i>Klebsiella grimonti</i>	3	7.1
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	1	2.4
<i>Klebsiella quasipneumoniae</i>	1	2.4
TOTAL	42	100

Tabla 3. Sensibilidad, especificidad y coeficiente Kappa de las pruebas fenotípicas para identificación general de carbapenemasas

Método fenotípico	VP	FN	FP	VN	%Sen. (95%CI)	%Esp. (95%CI)	Kappa (95%CI)
mCIM	115	7	0	37	94,3 (88,5 - 97,7)	100,0 (90,5 - 100,0)	0,88 (0.80 - 0.96)
CIM	121	1	0	37	99.2 (95,5 - 100,0)	100,0 (90.5 - 100,0)	0.98 (0.94 - 1.00)
rCDM	121	1	0	37	99.2 (95,5 - 100,0)	100,0 (90,5 - 100,0)	0.98 (0.94 - 1.00)
THT	121	1	4	33	99,2 (95,5 - 100,0)	89,2 (74,6 - 97,0)	0.90 (0.83 - 0.98)
Blue carba	120	2	2	35	98.4 (94,2 - 99,8)	94,6 (81.8 - 99.3)	0.93 (0.86 - 0.99)
Carba NP directo	119	3	0	37	97.5 (93,0 - 99,5)	100,0 (90,5 - 100,0)	0.94 (0.89 - 1.00)

VP: verdadero positivo; FN: falso negativo; FP: falso positivo; VN: verdadero negativo; Sen: sensibilidad; Esp: especificidad; CI: Intervalo de confianza.

Tabla 4. Sensibilidad, especificidad y coeficiente Kappa de las pruebas fenotípicas para identificación específica de carbapenemasas OXA-48-like.

Método fenotípico	VP	FN	FP	VN	%Sen. (95%CI)	%Esp. (95%CI)	Kappa (95%CI)
TEM	110	7	0	37	94,0 (88,1 - 97,6)	100 (90,5 - 100,0)	0,87 (0,79 - 0,95)
TZP/ETP	98	19	1	36	83,8 (75,8 - 89,9)	97,3 (85,8 - 99,9)	0,69 (0,57 - 0,81)
TZP/TEM	109	8	0	37	93,2 (87,0 - 97,0)	100 (90,5 - 100,0)	0,85 (0,76 - 0,94)
Disco OXA-48	55	62	0	42	47,0 (37,7 - 56,5)	100,0 (91,6 - 100,0)	0,31 (0,22 - 0,41)
Disco HI-OXA-48	97	20	0	42	82,9 (74,8 - 89,2)	100,0 (91,6 - 100,0)	0,71 (0,60 - 0,83)
TEM/AVI	99	18	1	41	84,6 (76,8 - 90,6)	97,6 (87,4 - 99,9)	0,72 (0,61 - 0,83)
TEM - MH/CLX	101	16	0	37	86,3 (78,7 - 92,0)	100,0 (90,5 - 100,0)	0,75 (0,64 - 0,86)

VP: verdadero positivo; FN: falso negativo; FP: falso positivo; VN: verdadero negativo; Sen: sensibilidad; Esp: especificidad; CI: Intervalo de confianza.

Tabla 5. Análisis de la MIC de meropenem, ertapenem e imipenem de las cepas en estudio

Grupo	Atb	Rangos ($\mu\text{g/ml}$)	X ($\mu\text{g/ml}$)	Me ($\mu\text{g/ml}$)	Mo ($\mu\text{g/ml}$)	MIC50 $\mu\text{g/ml}$	MIC90 ($\mu\text{g/ml}$)
grupo 1	MEM	0,03125 - 32	2,95	0.125	0,125 (40,7%)	0,125	8
	ETP	0,03125 - 256	20,13	1	1 (40,7%)	1	64
	IMP	0,25 - 128	11,43	2	2 (47,8%)	2	32
grupo 2	MEM	8 - 64	27,56	32	32 (44,4%)	32	64
	ETP	4 - 128	37,78	32	32 (66,7%)	32	128
	IMP	8 - 64	24	16	16 (55,6%)	16	64
grupo 3	MEM	0,03125 - 0.5	0,06	0,03125	0,03125 (89,2%)	0,03125	0,0625
	ETP	0,015625 - 8	0,56	0,03125	0,015625 (48,7%)	0,03125	0,5
	IMP	0,0625 - 8	0,77	0.25	0,25 (35,1%)	0.25	2

Atb: antibiótico; X: media; Me: mediana; Mo: moda

Grupo 1: aislamientos productores de solo carbapenemasa OXA-48-like

Grupo 2: aislamientos productores de carbapenemasa OXA-48-like + NDM o solo NDM

Grupo 3: aislamientos no productores de carbapenemasa

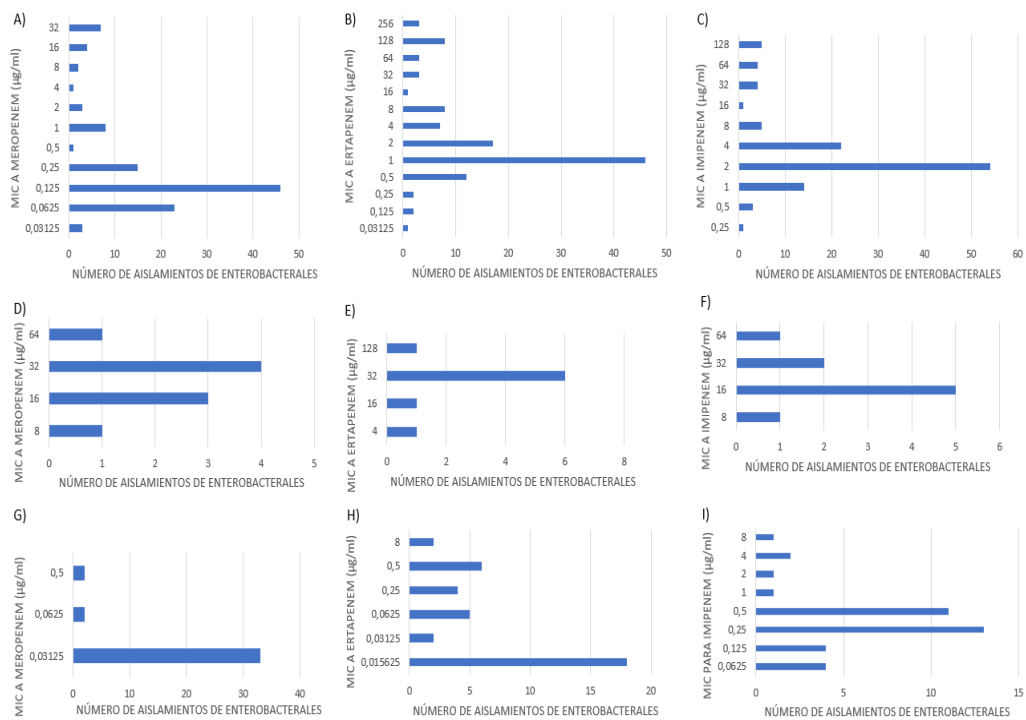


Figura 4. Gráfico de frecuencias de valores de MIC para meropenem, ertapenem e imipenem en aislamientos productores de solo OXA-48-like (A, B y C), productores de OXA-48-like + NDM y NDM (D, E y F) y no productores de carbapenemasas (G, H e I).

Tabla 6. Frecuencias de susceptibilidad de acuerdo a los puntos de corte de CLSI y EUCAST

Grupo	Atb	CLSI			EUCAST	
		S	I	R	S	R
Grupo 1 113 (100%)	MEM	97 (85,8%)	3 (2,7%)	13 (11,5%)	72 (63,7 %)	41 (36,3 %)
	ETP	17 (15,0%)	46 (40,7%)	50 (44,3%)	3 (2,7%)	110 (97,4%)
	IMP	18 (15,9%)	54 (47,8%)	41 (36,3%)	-	-
Grupo 2 9 (100%)	MEM	0	0	9 (100%)	0	9 (100%)
	ETP	0	0	9 (100%)	0	9 (100%)
	IMP	0	0	9 (100%)	-	-
Grupo 3 37 (100%)	MEM	37 (100%)	0	0	35 (94,6%)	2 (5,4%)
	ETP	35 (94,6%)	0	2 (5,4%)	25 (67,6%)	12 (32,4%)
	IMP	33 (89,2%)	1 (2,7%)	3 (8,1%)	-	-

ANEXOS

Anexo 1. Operacionalización de las variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipos	Escala	Indicador
THT	Método fenotípico para la detección de carbapenemasas	Se determinó por medio de un sobrecrecimiento de la cepa E. coli ATCC 25922 en la intersección de la estría con el halo de inhibición hacia el disco de ertapenem.	Cualitativa	nominal	*Positivo: presencia de distorsión del halo de inhibición alrededor del meropenem. *Negativo: ausencia de distorsión del halo de inhibición alrededor del meropenem.
Carba NP directo	Método fenotípico para la detección de carbapenemasas	Se determinó por medio del cambio de color	Cualitativa	nominal	*Positivo: cambio de color en la reacción de rojo a amarillo *Negativo: Ausencia del cambio de color
Blue Carba	Método fenotípico para la detección de carbapenemasas	Se determinó por medio del cambio de color	Cualitativa	nominal	*Positivo: Cambio de color en la reacción de azul a amarillo o amarillo verdoso *Negativo: Ausencia de cambio de color
mCIM	Método fenotípico para la detección de carbapenemasas	Se midió el halo de inhibición del disco de meropenem	Cualitativa	nominal	Positivo: Halo de 6 - 15 mm y colonias dentro de un halo 16 - 18 mm Indeterminado: halo 16 - 18 mm y un halo \geq 19 mm con colonias internas Negativo: halo \geq 19 mm
CIM	Método fenotípico para la detección de carbapenemasas	Se midió el halo de inhibición del disco de meropenem	Cualitativa	nominal	Positivo: Halo de 6 - 15 mm y colonias dentro de un halo 16 - 18 mm Indeterminado: halo 16 - 18 mm y un halo \geq 19 mm con colonias internas Negativo: halo \geq 19 mm
rCDM	Método	Se halló la	Cualitativa	nominal	Positivo: halo \geq 5 mm

	fenotípico para la detección de carbapenemasas	diferencia de halos entre imipenem e imipenem inoculada con la cepa	a		Indeterminado: 3 - 5 mm Negativo: < 3mm
Temocilina en agar MH	Método de difusión de disco de temocilina. Predicción de OXA-48.	Se midió el halo de inhibición del disco de temocilina.	Cualitativa	nominal	*positivo: < 11 mm *Negativo: ≥ 11 mm
Resistencia piperacilina-tazobactam y ertapenem	Método de difusión de disco de piperacilina-tazobactam y MIC de ertapenem. Predicción de OXA-48.	Se midió el halo de inhibición del disco de piperacilina-tazobactam y se determinó el MIC de ertapenem	Cualitativa	nominal	*positivo: resistente o intermedio a piperacilina-tazobactam (≤24mm) y ertapenem (≥1μg/ml) *negativo: sensible a piperacilina-tazobactam (≥25mm) y ertapenem (≤0.5μg/ml)
Resistencia piperacilina-tazobactam y temocilina	Método de difusión de disco de piperacilina-tazobactam y temocilina. Predicción de OXA-48.	Se midió el halo de inhibición del disco de piperacilina-tazobactam y temocilina.	Cualitativa	nominal	*positivo: resistente o intermedio a piperacilina-tazobactam (≤24mm) y temocilina (<11mm) *negativo: sensible a piperacilina-tazobactam (≥25mm) y temocilina (≥11mm)
Disco OXA-48	Método fenotípico para detectar OXA-48-like	Se observó el halo de inhibición del disco de imipenem.	Cualitativa	nominal	*Presencia de distorsión del halo de inhibición del imipenem hacia ambos discos adyacentes *No presencia de distorsión del halo de inhibición del imipenem hacia ambos discos adyacentes
Disco HI OXA-48	Método fenotípico para detectar OXA-48-like	Se observó el halo de inhibición del disco de imipenem.	Cualitativa	nominal	*Presencia de distorsión del halo de inhibición del imipenem hacia ambos discos adyacentes

					*No presencia de distorsión del halo de inhibición del imipenem hacia ambos discos adyacentes
Disco combinado temocilina-avibactam	Método fenotípico para detectar OXA-48	Se calculó la diferencia entre los halos de inhibición de temocilina y temocilina-avibactam.	Cualitativa	nominal	*positivo: ≥ 8 mm *negativo: < 8 mm
Temocilina en agar MH-CLX	Método fenotípico para detectar OXA-48	Se midió el halo de inhibición del disco de temocilina.	Cualitativa	nominal	*positivo: < 11 mm *Negativo: ≥ 11 mm
PCR	Método molecular que sirve para obtener muchas copias de un segmento específico de ADN.	La lectura se realizó en un fotodocumentador.	Cualitativa	nominal	*Positiva a OXA-48-like *Negativa a OXA-48-like
MIC	Es la concentración mínima de antibiótico capaz de inhibir el crecimiento bacteriano.	Se determinó mediante la técnica de microdilución en caldo.	Cuantitativa	continua	*4 mg/ml *0.5 mg/ml *otros