

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DE ENTEROBACTERALES PRODUCTORES DE CARBAPENEMASAS EN UN HOSPITAL DE NIVEL II DEL CALLAO, 2026

PHENOTYPIC AND GENOTYPIC CHARACTERIZATION OF CARBAPENEMASE-PRODUCING ENTEROBACTERALES IN A LEVEL II HOSPITAL IN CALLAO, 2026

TRABAJO ACADÉMICO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

AUTOR

RENE ALEXANDER OLIVARES PACHECO

ASESOR

JUAN CARLOS AGAPITO PANTA

LIMA - PERÚ

2026

ASESOR DE TRABAJO ACADÉMICO

ASESOR

MSC. JUAN CARLOS AGAPITO PANTA

FME. DPTO. ACADÉMICO DE TECNOLOGÍA MÉDICA

Identificador ORCID: 0000-0001-9134-7322

Fecha de Aprobación: 12/11/2026

Calificación: aprobado

DEDICATORIA

A mis padres: Juan Olivares y Mauricia Pacheco

A mi esposa, Ysabel Doris

A mi hijo, Diego Alexander

AGRADECIMIENTOS

A mis padres: Juan y Mauricia, por todo el esfuerzo realizado en mi formación profesional y personal.

A mi esposa Ysabel, por el apoyo y la paciencia brindada para la realización de la especialidad.

A mi asesor: MSc. Juan Agapito Panta, agradecido por el tiempo brindado, su orientación y constante apoyo durante la elaboración del presente proyecto.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Autofinanciado

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

DECLARACIÓN DEL AUTOR

El presente trabajo académico es original, se han seguido los lineamientos respectivos para respetar la ética en investigación y el mismo será utilizado para optar por el Título de especialista en microbiología clínica.

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

El egresado:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES
1.	OLIVARES PACHECO RENE ALEXANDER

Perteneciente al programa de la **SEGUNDA ESPECIALIDAD PROFESIONAL EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA,** autor del trabajo titulado: **CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DE ENTEROBACTERALES PRODUCTORES DE CARBAPENEMASAS EN UN HOSPITAL DE NIVEL II DEL CALLAO, 2026** el cual ha sido elaborado, sustentado y aprobado, según corresponda, para optar por el **TÍTULO DE ESPECIALISTA EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA** bajo la modalidad de **TRABAJO ACADÉMICO.**

En calidad de docente asesor de la Universidad Peruana Cayetano Heredia:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES DEL DOCENTE	FACULTAD	NIVEL DE ASESORÍA
1.	AGAPITO PANTA JUAN CARLOS	MEDICINA	ASESOR

Declaramos que el contenido del presente documento es original y que las citas y referencias a otros autores cumplen con las normas académicas establecidas. En ese sentido, hacemos constar que:

- El documento presenta un porcentaje de similitud de **14%**, según el reporte emitido por el software **Turnitin®** (identificador de entrega: **trn:oid:::1:3716616462**; fecha de entrega: **19-11-2026**
- Tras una revisión detallada del reporte y del contenido del trabajo en cuestión, no se han identificado indicios de plagio.
- Se certifica que el documento respeta los principios de integridad académica y cumple con los requisitos institucionales de originalidad.

Lugar y fecha: **Lima, 19 de noviembre del 2026.**



Firma del asesor
N° DNI: 17520490
ORCID: 0000-0001-9134-7322

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN

ABSTRACT

I. INTRODUCCIÓN 1

II. OBJETIVOS. 9

III. MATERIAL Y MÉTODO 10

IV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 23

V. ANEXOS .....

RESUMEN

La resistencia a los carbapenémicos mediada por la producción de carbapenemasas en *Enterobacterales* constituye un problema creciente de salud pública a nivel mundial, y en el Perú existen pocos estudios que aborden su caracterización integral. **Objetivo:** caracterizar el perfil fenotípico y genotípico de *Enterobacterales* productores de carbapenemasas (EPC) aislados en un hospital de nivel II del Callao en el año 2026. **Métodos y Materiales:** El estudio tiene un diseño observacional, descriptivo y de corte transversal. La población estará conformada por todos los aislamientos clínicos consecutivos no repetidos de *Enterobacterales* que se obtengan de muestras biológicas de pacientes adultos que sean atendidos en los servicios de hospitalización, unidad de cuidados intensivos y emergencia durante el período enero a diciembre de 2026. Se empleará un muestreo censal no probabilístico que incluya todos los aislamientos de *Enterobacterales* no sensibles a carbapenémicos que cumplan con los criterios de inclusión establecidos, de acuerdo con los puntos de corte del CLSI 2026. La identificación de género y especie, así como el perfil de sensibilidad antimicrobiana, se realizarán mediante el sistema automatizado MicroScan Walkaway 96 plus (Beckman Coulter). Para la caracterización fenotípica de carbapenemasas se aplicarán el método modificado de inactivación de carbapenémicos (mCIM) y la prueba inmunocromatográfica de flujo lateral (RESIST-5 O.K.N.V.I., Coris BioConcept), orientada a la detección de los fenotipos KPC, NDM, VIM, IMP y OXA-48. La caracterización genotípica se llevará a cabo mediante PCR Multiplex, siguiendo el protocolo del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas "Dr. Carlos G. Malbrán" de Argentina, para la identificación de los genes *bla*$_{\text{KPC}}$, *bla*$_{\text{NDM}}$, *bla*$_{\text{IMP}}$, *bla*$_{\text{VIM}}$ y *bla*$_{\text{OXA-48}}$. Los datos obtenidos serán procesados mediante un análisis descriptivo de cada variable de estudio, presentados en tablas y gráficos de barra con el apoyo del software estadístico SPSS v.25.

Palabras clave: *Enterobacterales*; carbapenémicos; resistencia microbiana; reacción en cadena de la polimerasa; susceptibilidad antimicrobiana.

ABSTRACT

Carbapenem resistance mediated by carbapenemase production in Enterobacterales is a growing public health concern worldwide; however, few studies in Peru address its comprehensive characterization. Objective: To characterize the phenotypic and genotypic profile of carbapenemase-producing Enterobacterales (CPE) isolated at a level II hospital in Callao during 2026. Methods and Materials: An observational, descriptive, cross-sectional study Will be conducted. The study population will consist of all consecutive, non-duplicate clinical isolates of Enterobacterales obtained from biological samples of adult patients treated in inpatient wards, the intensive care unit, and the emergency department between January and December 2026. Using non-probabilistic census sampling, all carbapenem-non-susceptible isolates meeting the inclusión criterio will be included according to CLSI 2026 breakpoints. Genus and species identification, along with antimicrobial susceptibility testing, will be performed using the automated MicroScan WalkAway 96 Plus system (Beckman Coulter). Phenotypic characterization will be carried out using the modified carbapenem inactivation method (mCIM) and a lateral flow immunochromatographic assay (RESIST-5 O.K.N.V.I., Coris BioConcept) for the detection of KPC, NDM, VIM, IMP, and OXA-48 phenotypes. Genotypic characterization will be performed by multiplex PCR, following the protocol of the National Institute of Infectious Diseases “Dr. Carlos G. Malbrán” (Argentina), to identify the blaKPC, blaNDM, blaIMP, blaVIM, and blaOXA-48 genes. Data will be processed through descriptive statistical analysis of each variable and presented in tables and bar charts using SPSS v.25.

Keywords: Enterobacterales; carbapenems; microbial drug resistance; polymerase chain reaction; microbial sensitivity tests (DeCS).

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Fundamento lógico y justificación del estudio

La aparición y diseminación de Enterobacterales productores de carbapenemasas (EPC) constituye uno de los retos sanitarios más relevantes de la última década. Estas enzimas otorgan a bacterias de importancia clínica como *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli, Enterobacter spp*. Y otros miembros del orden *Enterobacterales*, la capacidad de hidrolizar carbapenémicos, que son antibióticos que se consideran de última generación para tratar infecciones graves causadas por microorganismos multirresistentes. Las carbapenemasas limitan de forma relevante las opciones terapéuticas, aumentan los costos de la atención sanitaria y se asocian con mayores tasas de mortalidad hospitalaria. Ante esta situación, los sistemas de salud requieren estrategias basadas en evidencia para detectar, caracterizar y controlar la propagación de estas bacterias (1).

Desde la perspectiva microbiológica y epidemiológica, caracterizar fenotípica y genotípicamente a los EPC aporta información esencial para comprender cómo se distribuyen los diferentes tipos de carbapenemasas y qué mecanismos de resistencia asociados coexisten en cada aislado. El estudio fenotípico permite evaluar la expresión funcional de las enzimas mediante pruebas de sensibilidad a antimicrobianos y ensayos de detección, mientras que la caracterización genotípica facilita la identificación precisa de los genes que codifican dichas carbapenemasas. Integrar ambos enfoques ayuda a correlacionar patrones de resistencia con determinados perfiles genéticos, lo que es fundamental para implementar medidas de vigilancia y control de brotes (2).

1.2 Propósito del estudio

El propósito del proyecto es detectar y describir la presencia de EPC, evaluando tanto sus características fenotípicas (resistencia a diferentes antibióticos, producción de carbapenemasas, presencia de mecanismos combinados) como sus perfiles genotípicos (genes específicos de carbapenemasas, posibles elementos móviles, correlación con clones de alto riesgo). A partir de este análisis se pretende, determinar la prevalencia de EPC en las muestras clínicas recogidas y catalogar los tipos de carbapenemasas detectadas, en un hospital de nivel II del Callao, en el año 2026.

1.3 Importancia del estudio

Realizar este estudio tiene un valor muy considerable para la comunidad científica como para el trabajo clínico. La clave para la identificación temprana y precisa de EPC es prevenir que se propaguen los aislamientos con alta resistencia y hacer un mejor uso de los antibióticos disponibles. En muchos hospitales, la detección de carbapenemasas todavía se hace de forma limitada o basada en métodos fenotípicos, que pueden no detectar todas las variantes; por ello, la combinación de métodos fenotípicos y genotípicos proporcionará una visión más completa de la resistencia y contribuir a la construcción de políticas de vigilancia más sólidas (4).

La resistencia antimicrobiana ha dejado de ser un asunto exclusivo del laboratorio para convertirse en una preocupación de salud pública, y desde esa realidad se plantea la presente investigación. Sus alcances, por tanto, superan lo estrictamente

técnico. Quienes padecen las consecuencias más graves suelen ser pacientes vulnerables, mientras el sistema sanitario debe asumir costos y tiempos de atención cada vez mayores. Frente a ello, conocer de qué forma los EPC se propagan y diversifican en el medio local ofrecería fundamentos para intervenir con medidas precisas. Entre ellas, reducir la incidencia de estas infecciones y apoyar el control de calidad del laboratorio clínico. También orientar un uso más racional de los antibióticos. Hasta ahora, la información disponible en el ámbito local resulta escasa, y este estudio pretende cubrir ese vacío, sin perder de vista que cada hallazgo regional suma a la contención de la resistencia bacteriana a escala mundial.

1.4 Antecedentes

Tekele *et al*., en Etiopía, se efectuó un estudio transversal para determinar la magnitud de *Enterobacterales* multirresistentes y productores de carbapenemasas. Se identificaron 312 aislamientos clínicos usando el sistema Phoenix-100 y se evaluó la susceptibilidad antimicrobiana. Los presuntos productores de carbapenemasas se confirmaron con el ensayo de inactivación de carbapenems, y las clases KPC, MBL y OXA-48 se caracterizaron fenotípicamente mediante discos de difusión. De los 312 aislados, 68,6 % fueron multirresistentes y 2,6 % EPC (1,6 % OXA-48, 0,6 % MBL y 0,3 % coproducción KPC/OXA-48). La especie dominante fue *E. coli* (72,4 %) seguida de *K. pneumoniae* (13,8 %). Los EPC mostraron mayor resistencia a ampicilina (100 % vs. 77,6 %) y cefoxitina (75 % vs. 20,6 %) que las restantes multirresistentes. Los autores concluyen que la prevalencia de multirresistencia y EPC es preocupante en

Etiopía; recomiendan detección continua y caracterización genotípica para guiar la terapia y controlar la propagación (3).

Zangane *et al*., en Irán, se realizó un estudio transversal que evaluó 406 aislados de *E. coli* uropatógena en Ahvaz para caracterizar la resistencia carbapenémica y la virulencia. La identificación se realizó mediante métodos bioquímicos y PCR; la producción de metalo-β-lactamasas (MBL) se comprobó con las pruebas mCIM y eCIM. Entre los 406 asilados, 12 (2,95 %) fueron resistentes a carbapenémicos y 11 produjeron MBL. Las frecuencias de genes de carbapenemasas fueron: bla_{NDM} (9 aislados), $bla_{\text{OXA-48}}$ (5), $bla_{\text{IMP-1}}$ (1) y $bla_{\text{IMP-2}}$ (1). Se analizaron 30 genes de virulencia; los más frecuentes fueron *traT* y *fyuA* (66,7 %), seguidos de *fimH* e *iutA* (58,3 %). La mayor parte de los aislados presentaron índice de virulencia bajo o moderado y la resistencia se transmitió por plásmidos durante ensayos de conjugación. Los autores concluyen que los genes bla_{NDM} y $bla_{\text{OXA-48}}$ se están propagando rápidamente y que comprender los mecanismos de resistencia y virulencia es clave para guiar tratamientos y políticas (2).

Zhang *et al*., en China, en un hospital se recuperaron 52 aislados de *Enterobacterales* resistentes a carbapenémicos entre 2013-2017, procedentes de 37 pacientes y dos dispositivos. Se realizaron pruebas fenotípicas de susceptibilidad y secuenciación genómica completa. Los resultados evidenciaron que la hospitalización prolongada, la duración del tratamiento con antibióticos y el uso de dispositivos invasivos se asociaron al riesgo de infección por *Enterobacterales* resistentes a

carbapenémicos. Los genes de resistencia a carbapenémicos identificados fueron *bla*$_{NDM}$ (82,7 %), *bla*$_{IMP}$ (19,2 %) y *bla*$_{KPC}$ (3,8 %). *Escherichia coli* (44,2 %) y *Klebsiella pneumoniae* (44,2 %) fueron las especies predominantes, y el tipo de genes de resistencia a carbapenémicos presente en los aislados se correlacionó estrechamente con la especie. La coexistencia de genes de resistencia a carbapenémicos con diversos genes de resistencia a antibióticos conlleva una mayor prevalencia de resistencia a los β-lactámicos y a otras clases de antibióticos, como los aminoglucósidos y las fluoroquinolonas, en los aislados de *Enterobacterales* resistentes a carbapenémicos. Estos aislados solo fueron sensibles a la colistina y la tigeciclina. Además, se observó una diversidad genómica significativa en los aislados de *Enterobacterales* resistentes a carbapenémicos de este hospital. Cabe destacar que se detectó transmisión a largo plazo de múltiples clones de *Enterobacterales* resistentes a carbapenémicos entre las distintas salas del hospital. Conclusión: Puede ser necesario evaluar y mejorar las estrategias actuales de control de infecciones, y la reducción de la transmisión nosocomial sigue siendo el principal elemento de control de las infecciones por *Enterobacterales* resistentes a carbapenémicos en China (1).

Yin *et al*., en China, desarrollaron un estudio regional que evaluó 930 aislados de *Enterobacterales* resistentes a carbapenémicos procedentes de 19 hospitales. La identificación fenotípica, PCR y secuenciación permitieron detectar que 922 eran productores de carbapenemasas; *K. pneumoniae* (KP) representó el 85,1 % y *E. coli* 10,4 %. El gen principal fue *bla*$_{KPC-2}$ (84,6 %), seguido de *bla*$_{NDM}$ (13,77 %). El análisis multilocus sequence typing (MLST) y tipificación wzi revelaron la dominancia del clon

ST11; los ensayos de conjugación mostraron alta transferencia de plásmidos portadores de NDM, la intervención hospitalaria redujo algunos clones, pero otros persistieron, por lo que los autores recomiendan estrategias regionales de control y vigilancia. Conclusiones: la expansión clonal de *Enterobacterales* resistentes a carbapenémicos, especialmente de KPC-2 ST11 KP, fue el factor clave que contribuyó al aumento de *Enterobacterales* resistentes a carbapenémicos en la región. Debe mantenerse la vigilancia constante ante posibles importaciones. Se necesitan con urgencia intervenciones regionales coordinadas para reducir la amenaza de *Enterobacterales* resistentes a carbapenémicos (4).

Mayta et al., examinaron la presencia de carbapenemasas en 30 hospitales peruanos a lo largo del 2019. Reunieron 185 cepas productoras de estas enzimas. Para confirmar el fenotipo e identificar el tipo enzimático, los autores recurrieron a la prueba Blue CARBA y, de forma complementaria, a la sinergia con discos de ácido fenilborónico y ácido etilendiaminotetraacético/ácido mercaptoacético sódico. La mayor parte de los aislados provino de *Enterobacterales,* con 78 casos, seguida de P. aeruginosa con 61 y de Acinetobacter spp. con 46. En cuanto a los genes, el hallazgo resultó heterogéneo, pues se registraron bla_{KPC}, bla_{NDM}, bla_{IMP}, bla_{VIM}, bla_{OXA-23}, bla_{OXA-24} y bla_{OXA-51}, e incluso cepas con coproducción de bla_{VIM}/bla_{IMP}. Ante semejante variedad, el equipo de investigación planteó la necesidad de intensificar la vigilancia epidemiológica hospitalaria y de impulsar con mayor firmeza el uso racional de antimicrobianos en el país (5).

Soriano et al., se propusieron determinar la presencia de *Enterobacterales* productores de betalactamasas en efluentes de dos hospitales de nivel II y III de Lima, Perú. Para ello, el perfil de resistencia de las bacterias aisladas se estableció con el sistema MicroScan frente a 18 antimicrobianos. La búsqueda de genes asociados a betalactamasas de espectro extendido (BLEE) *(bla_{CTX-M}, bla_{SHV}, bla_{TEM}, bla_{PER})* y a carbapenemasas *(bla_{KPC}, bla_{NDM}, bla_{VIM}, bla_{IMP})* se efectuó, en cambio, mediante PCR convencional. Se obtuvieron 32 aislamientos, y ninguno escapó al patrón de multirresistencia. En las muestras de ambos hospitales se halló el gen bla_{TEM}, propio de las BLEE, junto con los genes de carbapenemasas bla_{KPC} *y* bla_{IMP}. Según los autores, la descarga de estos microorganismos hacia espacios públicos, sumada a la ausencia de tratamiento de los efluentes hospitalarios, representaría una amenaza considerable para la salud pública (6).

García-Cedrón et al, desarrollaron en Trujillo, Perú, un estudio descriptivo orientado a analizar la frecuencia de bacterias productoras de carbapenemasas con resistencia a imipenem y meropenem. Los aislamientos procedían de pacientes hospitalizados en la UCI del Hospital Víctor Lazarte Echegaray entre mayo de 2021 y marzo de 2022, en plena pandemia de COVID-19. Mientras la sensibilidad antimicrobiana se evaluó con el sistema automatizado AutoScan-4, la tipificación de carbapenemasas se realizó con cassettes RESIST-3 O.K.N K-SET. De los 129 cultivos procesados, 76 (58,9 %) mostraron resistencia a ambos carbapenémicos. Predominaron *Klebsiella pneumoniae* (31,6 %), *Pseudomonas aeruginosa* (26,3 %) y *Acinetobacter baumannii* (14,5 %). La enzima KPC se identificó en la totalidad de los aislamientos

de *Klebsiella* spp., en tanto que NDM se detectó en *Enterobacter cloacae, Morganella morganii* y *Proteus mirabilis*. Con base en estos resultados, los autores advirtieron una elevada prevalencia de bacterias resistentes a carbapenémicos en la UCI evaluada y señalaron la urgencia de reforzar la vigilancia microbiológica en los servicios hospitalarios críticos del país (7).

Cuicapuza et al., caracterizaron 21 aislamientos clínicos de EPC, consecutivos y no repetidos, obtenidos durante 2018 en un hospital de tercer nivel de Lima, Perú. El análisis combinó pruebas fenotípicas de susceptibilidad antimicrobiana con la secuenciación del genoma completo, lo que permitió identificar tanto los determinantes de resistencia como los factores de virulencia. Siete aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* alcanzaron la categoría de extensamente resistentes. El resto, conformado por cepas de *Klebsiella, Enterobacter hormaechei* y *Escherichia coli*, resultó multirresistente. En dieciocho cepas se detectó la metalo-β-lactamasa NDM-1 y en dos la serina-carbapenemasa KPC-2, mientras que un único aislado expresaba ambas enzimas. Desde el punto de vista genético, $bla_{\text{NDM-1}}$ se ubicaba en el elemento truncado ΔISAba125, y $bla_{KPC\text{-}2}$, por su parte, en el transposón Tn4401a. Entre los aislados de *K. pneumoniae* predominó el tipo de secuencia ST147. Los autores advirtieron que la emergencia de EPC exige una respuesta inmediata, orientada a reforzar las medidas de control y los programas de uso racional de antibióticos en países de ingresos bajos y medios (8).

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Caracterizar el perfil fenotípico y genotípico de *Enterobacterales* productores de carbapenemasas (EPC) aislados en un hospital de nivel II del Callao, 2026.

2.2 Objetivos específicos

- Describir la frecuencia de EPC según el tipo de muestra clínica.
- Evaluar el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos de EPC.
- Identificar las características fenotípicas de EPC mediante el método modificado de inactivación de carbapenémicos (mCIM) y la prueba inmunocromatográfica.
- Determinar las características genotípicas de EPC mediante la técnica de PCR multiplex.

III. MATERIAL Y MÉTODO

3.1 Diseño del estudio

El presente estudio se realizará mediante un diseño observacional, descriptivo y transversal, en el que se orienta una caracterización fenotípica y genotípica de EPC (9). Observacional ya que este diseño no intervendrá ni modificará deliberadamente las variables que constituyen el objeto de estudio, sino que se analizarán las características propias de los aislamientos bacterianos obtenidos en condiciones rutinarias de atención clínica (10). Descriptivo porque se busca identificar y detallar las especificidades fenotípicas (perfil de susceptibilidad antimicrobiana y producción de carbapenemasas) y genotípicas (presencia de los genes implicados en la producción de carbapenemasas) de los aislamientos objeto del estudio. También será considerado como transversal, dado que se hará la recolección de muestras y el análisis de las mismas a lo largo de un periodo de tiempo determinado, careciendo de continuación en el tiempo de los casos para poder combinar las diversas muestras de infecciones cuando sea posible (11).

3.2 Población

La población estará constituida por todos los aislamientos clínicos consecutivos no repetidos de *Enterobacterales* obtenidos de muestras biológicas de pacientes adultos atendidos en los servicios de hospitalización, unidad de cuidados intensivos (UCI) y emergencia, durante el periodo de estudio establecido. Se considerarán los siguientes criterios de selección:

Criterios de inclusión

- Aislamientos bacterianos pertenecientes al orden *Enterobacterales.*
- Aislamientos obtenidos de muestras clínicas, como de orina, sangre, partes blandas, aspirados traqueales, abscesos, heridas quirúrgicas, y líquidos de punción.
- Aislados identificados como no sensibles (intermedios o resistentes) a carbapenémicos.
- Aislamientos correctamente conservados y viables para su análisis fenotípico y genotípico.

Criterios de exclusión

- Aislamientos bacterianos que no correspondan al orden *Enterobacterales.*
- Aislados contaminados o con crecimiento insuficiente para su correcta identificación.
- Aislamientos duplicados provenientes del mismo paciente y del mismo tipo de muestra.
- Muestras que no cumplan con los criterios técnicos de conservación y viabilidad bacteriana.

3.3 Muestra

La muestra estará conformada por todos los aislamientos de *Enterobacterales* (muestras de orina, sangre, partes blandas, aspirados traqueales, abscesos, heridas

quirúrgicas, y líquidos de punción) que cumplan con los criterios de inclusión, obtenidos durante el periodo de recolección de muestras (durante el periodo de enero a diciembre de 2026). Se empleará un muestreo no probabilístico de tipo censal, dado que se incluirán todos los aislamientos elegibles disponibles en el tiempo del estudio, con el fin de maximizar la representatividad y la validez descriptiva de los resultados (12).

3.4 Definición operacional de variables

Especie bacteriana: Clasificación taxonómica del aislamiento bacteriano a nivel de especie, según la identificación que reporte el equipo MicroScan Walkaway 96 plus de Beckman Coulter.

Perfil de susceptibilidad antimicrobiana: se definirá con base a la interpretación clínica de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) que reporte el equipo MicroScan Walkaway 96 plus de Beckman Coulter; según CLSI 2026.

Caracterización fenotípica: se referirá a la identificación de mecanismos que confieren a la bacteria la capacidad de resistir a los carbapenémicos, mediante pruebas como la inactivación modificada de carbapenémicos (mCIM) y la prueba inmunocromatográfica.

Caracterización genotípica: se definirá como la identificación de genes codificantes de carbapenemasas, empleando para ello una PCR Multiplex (reacción en cadena de la polimerasa).

Muestras clínicas: corresponderá al origen anatómico o fluido corporal del paciente de donde se aisló la bacteria.

OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES:

Variable	Definición operacional	Dimensiones	Escala de medición	Categoría
Especies de *Enterobacterales*	La identificación microbiológica será obtenida mediante el sistema automatizado MicroScan Walkaway 96 plus-Beckman Coulter.	Especie bacteriana que sería identificada	Nominal	-*Escherichia coli.* -*Klebsiella pneumoniae.* -*Enterobacter cloacae.* -*Providencia rettgeri.* -*Citrobacter freundii.* -Otros *Enterobacterales*.
Perfil de susceptibilidad antimicrobiana	Clasificación de los aislamientos según los puntos de corte de concentración mínima inhibitoria (CMI) del sistema automatizado MicroScan Walkaway 96 plus-Beckman Coulter.	Puntos de corte de interpretación según criterios del CLSI 2026.	Ordinal	-Sensible (S). -Susceptible dosis-dependiente (SDD). -Intermedio (I). -Resistente (R).
Caracterización fenotípica	Se realizará mediante: la capacidad de hidrólisis bacteriana con el método modificado de inactivación de carbapenémicos (mCIM) y la detección antigénica rápida con la prueba inmunocromatográfica de flujo lateral; En aislamientos clínicos de *Enterobacterales* no sensibles a carbapenémicos.	• Presencia o ausencia de halo de inhibición bacteriana en mm. (mCIM). • Presencia de líneas reactivas para proteínas específicas (inmunocromatografía).	Nominal	***Para mCIM:** -Positivo -Negativo -Indeterminado *** Para Inmunocromatografía**: -KPC -NDM -VIM -IMP -OXA-48 -No detectable

Caracterización genotípica	Se realizará por medio de la Identificación molecular de los fragmentos de ADN bacteriano mediante amplificación por PCR multiplex; en los aislamientos previamente caracterizados fenotípicamente.	Tamaño de los fragmentos de ADN amplificados (en pares de bases).	Nominal	-Sólo *bla*$_{KPC}$ -Sólo *bla*$_{NDM}$ -Sólo *bla*$_{VIM}$ -Sólo *bla*$_{IMP}$ -Sólo *bla*$_{OXA-48}$ -Coproductores (ej. NDM + VIM,KPC+NDM) -Ninguno (Negativo)
Muestras clínicas	Registro del tipo de muestra clínica procesada en el laboratorio de microbiología.	Tipo de muestra clínica recibida.	Nominal	•Sangre. •Orina. •Partes blandas. •Aspirados traqueales. •Abscesos. •Heridas quirúrgicas. •Líquidos de punción.

3.5 Procedimientos y técnicas

Siembra de muestras clínicas

Los aislamientos bacterianos incluidos en el estudio procederán de muestras clínicas procesadas rutinariamente en el laboratorio de microbiología, obtenidas de pacientes adultos atendidos en los servicios de hospitalización, UCI y emergencia durante el periodo de enero a diciembre de 2026 en un hospital público. Las muestras de procedencia incluirán orina, sangre, aspirados traqueales, abscesos, heridas quirúrgicas, partes blandas y líquidos de punción. A partir de estas se obtendrán aislamientos bacterianos del orden *Enterobacterales*, los cuales serán identificados y evaluados. Sólo se incluirán aislamientos no sensibles a carbapenémicos.

Aislamientos bacterianos

Se procederá a la identificación de género, especie y perfil de sensibilidad mediante el empleo del sistema automatizado (MicroScan Walkaway 96 plus-Beckman Coulter). Sólo se tomarán en cuenta para el estudio, aislamientos bacterianos que pertenezcan al orden de *Enterobacterales* que cumplan criterios de sospecha para Carbapenemasas (según puntos de corte actuales del CLSI 2026).

Métodos fenotípicos para detectar presencia de carbapenemasas

- Método modificado de inactivación de carbapenémicos (mCIM)
- Métodos Inmunocromatograficos(flujo lateral)

Método genotípico para detectar presencia de carbapenemasas

- Método molecular, Prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) Multiplex.

Detección de genes:

- CLASE A (serincarbapenemasa):KPC
- CLASE B (Metalobetalactamasa):NDM,IMP,VIM
- CLASE D (Oxacilinasa):OXA-48

Se debe conocer las secuencias de los primers (cebadores, iniciadores)

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE PROTOCOLOS QUE SE EMPLEARÁN EN LA INVESTIGACIÓN

1. Prueba Inmunocromatografica (13)

(PRUEBA -MARCA: O.K.N.V.I. RESIST-5 – CORIS BIOCONCEPT): Prueba rápida de diagnóstico in vitro diseñada para detectar las carbapenemasas OXA-48, KPC, NDM, VIM e IMP a partir de cultivos bacterianos.

Procedimiento

Preparación de la prueba:

- Antes de iniciar el ensayo, los componentes del kit deben alcanzar la temperatura ambiente (15-30 °C) sin retirarlos de la bolsa. Lo mismo se aplica a las muestras cuando la placa con la colonia a analizar se haya conservado a 4 ºC.
- Luego se abre la bolsa y se retira el dispositivo, que debe utilizarse de inmediato.
- Cada dispositivo se rotula con el nombre y los apellidos del paciente o con el número de muestra, considerando un dispositivo por muestra.

Procedimiento de preparación de las muestras:

El rendimiento de la prueba solo ha sido establecido para colonias bacterianas, por lo que no existen datos sobre otros tipos de muestra. Se recomienda trabajar con colonias frescas, ya que así se obtiene un desempeño óptimo.

- En un tubo semirrígido se colocan 12 gotas de tampón LY-A.

- Con un asa bacteriológica desechable se toma una colonia y se sumerge hasta el fondo del tubo que contiene el tampón. Antes de retirar el asa, se remueve bien.
- A continuación, el cuentagotas se inserta con firmeza en el tubo semirrígido.
- El preparado se agita hasta lograr su homogeneización, cuidando que toda la colonia bacteriana quede suspendida en el tampón.
- Con el tubo invertido, se dispensan lentamente 3 gotas de la muestra diluida en el pocillo para muestras de cada uno de los dos cartuchos, identificados como (1) NDM, KPC y OXA-48 y (2) IMP y VIM. De manera alternativa, puede emplearse una micropipeta para añadir 100 µl de la muestra diluida en cada pocillo del cartucho.
- La reacción se deja transcurrir durante un máximo de 15 min, tras lo cual se procede a la lectura del resultado.

Nota:

Un resultado positivo puede informarse en cuanto se observen tanto la línea de prueba como la línea de control.

Las líneas que aparezcan después de concluido el tiempo de reacción carecen de validez y no deben considerarse.

Interpretación de los resultados

En cada uno de los dos cartuchos, los resultados se interpretan de la siguiente manera:

Resultado negativo de la prueba: En la ventana central de lectura se observa una sola línea de color rojo-púrpura, ubicada en la posición correspondiente a la línea de control (C), sin que aparezca ninguna otra línea.

Resultado positivo de la prueba: Junto a la línea rojo-púrpura situada en la posición de control (C), se observa otra línea del mismo color en alguna de las posiciones de prueba ("N", "K" u "O") del cartucho identificado como (1) NDM, KPC y OXA48, o bien en alguna de las posiciones de prueba ("I" o "V") del cartucho identificado como (2) IMP y VIM. No todas las líneas de prueba presentan la misma intensidad, pues esta depende de la cantidad de antígenos y de la variante presente en la muestra. Por ello, toda línea de prueba rojo-púrpura (OXA-48, KPC, NDM, VIM y IMP) se interpreta como positiva, incluso cuando su coloración sea tenue.

En ocasiones aparecen varias líneas de prueba positivas a la vez, lo que significa que la muestra alberga una combinación de carbapenemasas.

Resultado no válido de la prueba: Cuando la línea de control no aparece, se entiende que hubo una falla en el procedimiento. En ese caso, la prueba debe repetirse con un dispositivo nuevo.

Nota: Mientras la tira se seca, es posible que surja una sombra muy tenue en las posiciones de las líneas de prueba, la cual no debe interpretarse como un resultado positivo.

2. Test: Método Modificado de Inactivación a Carbapenémicos (mCIM)(14)

Procedimiento:

En un criovial con 2 mL de caldo tripticasa de soya (TSB) se incubará 1 µL (1 asada) de la bacteria en estudio. Tras mezclar la suspensión, se añadirá un disco de Meropenem de 10 µg y se incubará el conjunto durante 4 horas a 37 °C. Luego, se preparará una suspensión de *E. coli* ATCC 25922 ajustada a 0.5 McFarland, con la cual se inoculará una placa de agar Mueller Hinton. Concluido el tiempo de incubación, el disco de Meropenem se retirará de la suspensión y se colocará sobre la placa previamente inoculada, que permanecerá a 37 °C durante 24 horas. Finalmente, se medirá el diámetro del halo de inhibición formado alrededor del disco. Los resultados se interpretarán según los siguientes criterios:

-Carbapenemasa Positiva: Halo 6-15 mm o presencia de colonias dentro de un halo de 16-18 mm.

-Carbapenemasa Negativa: Halo ≥ 19 mm.

-Indeterminado: Halo de 16-18 mm sin colonias en su interior, situación en la que no es posible confirmar si el aislamiento produce o no carbapenemasa.

3. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) Multiplex

Según el protocolo de trabajo del Instituto "Dr. Carlos G. Malbrán" de Argentina, que se especifica a continuación (15)**:**

Nombre primer	Gen	Secuencia 5´--3´
VIM-F	VIM	AGT GGT GAG TAT CCG ACA G
VIM-R		ATG AAA GTG CGT GGA GAC
IMP-UF1	IMP	GGY GTT TWT GTT CAT ACW TCK TTY GA
IMP-UR1		GGY ARC CAA ACC ACT ASG TTA TCT
NDM-F	NDM	AGC ACA CTT CCT ATC TCG AC
NDM-R		GGC GTA GTG CTC AGT GTC
KPC-F	KPC	AAC AAG GAA TAT CGT TGA TG
KPC-R		AGA TGA TTT TCA GAG CCT TA
OXA48-F	OXA-48-like	ATGCGTGTATTAGCCTTATCGG
OXA48-R2		TGAGCACTTCTTTTGTGATG

Tamaño amplicon	Ciclado
VIM= 261 pb IMP = 404 pb NDM = 512 pb KPC = 916 pb OXA-163 = 763 pb (*)	Desnaturalización inicial = 94ºC por 5min; Ciclado= 30-35 ciclos: 94ºC 30seg -- 54º 30seg -- 72ºC 60seg; Extension final = 72ºC por 10min

Reacción de PCR --> Vol. final = 50ul	
Reactivo	**Volumen**
ADN	5 ul
Buffer 10X	5 ul
MgCl2 (50 mM)	1,5 ul
dNTP´s (10 mM)	1 ul
Taq pol (5U/ul)	0,4 ul
Primers vim-F/R (10 µM)	1 ul (c/u)
Primers ndm-F/R (10 µM)	1 ul (c/u)
Primers impU-1/2 (10 µM)	2,4 ul (c/u)
Primers kpc-F/R (10 µM)	2 ul (c/u)
Primers oxa48-F/R2 (10 µM)	1 ul (c/u)
H2O	22,3 ul
Vol. Final	**50 ul**

3.6 Aspectos éticos del estudio

Esta investigación se ajustará a los principios éticos que rigen los estudios en salud, entre ellos el respeto por las personas, la confidencialidad y la beneficencia. Su naturaleza es microbiológica. El trabajo se centrará en aislamientos bacterianos y no implicará intervención alguna sobre los pacientes, de modo que no se recogerán datos personales ni información clínica que permita identificarlos. Además, las muestras provendrán de los procesos diagnósticos que el laboratorio realiza de manera habitual, razón por la cual su análisis no supondrá ningún riesgo añadido para quienes las originaron.

La información que se obtenga no tendrá otro destino que el ámbito académico y científico. Ningún procedimiento se iniciará sin la revisión previa del comité de ética respectivo, instancia que deberá aprobar el proyecto y verificar que este se ajuste a la normativa ética y bioética vigentes.

3.7 Plan de análisis

Cada dato obtenido se ingresará en una base de datos construida exclusivamente para este estudio. Se aplicará estadística descriptiva. En el caso de las variables categóricas, su expresión se hará en frecuencias absolutas y porcentajes, y con ellas se describirá la distribución de las especies de Enterobacterales identificadas, sus perfiles

de sensibilidad, los resultados de las pruebas fenotípicas para carbapenemasas y la frecuencia con que se detecten, por PCR, los genes de resistencia (16).

Se contrastarán, además, los resultados fenotípicos con los genotípicos para estimar su concordancia. De esta comparación podrían desprenderse patrones de resistencia o correlaciones dignas de atención. El procesamiento estará a cargo del software estadístico SPSS v.25, y la presentación de los hallazgos, en tablas y gráficos de barras, buscará facilitar tanto su lectura como su discusión (17).

IV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zhang Y, Li W, Tian X, Sun R, Zhou S, Jia L, et al. Phenotypic and Genotypic Characterization of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Recovered from a Single Hospital in China, 2013 to 2017. Infect Drug Resist. 2022 Dec;Volume 15:7679–90. doi:10.2147/IDR.S393155

2. Zangane F, Rezatofighi S, Roayaei M, Akhoond M, Mahmoodi F. Virulence characterization and clonal analysis of uropathogenic Escherichia coli metallo-beta-lactamase-producing isolates. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2021 Aug 3;20(1):50. doi:10.1186/s12941-021-00457-4

3. Tekele S, Teklu D, Legese M, Weldehana D, Belete M, Tullu K, et al. Multidrug-Resistant and Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* in Addis Ababa, Ethiopia. Cantore S, editor. Biomed Res Int. 2021 Jan 12;2021(1). doi:10.1155/2021/9999638

4. Yin C, Yang W, Lv Y, Zhao P, Wang J. Clonal spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in a region, China. BMC Microbiol. 2022 Mar 29;22(1):81. doi:10.1186/s12866-022-02497-y

5. Mayta M, Ramirez J, Pampa L, Yagui M. Caracterización molecular de carbapenemasas en el Perú durante el 2019. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2021 Mar 26;38(1):113–8. doi:10.17843/rpmesp.2021.381.5882

6. Soriano D, Yareta J, Rojas A, Fajardo A, León D, Castillo I, et al. Efluentes hospitalarios como reservorio de enterobacterias productoras de betalactamasas y carbapenemasas. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2021 Apr 14;38(2):302–7. doi:10.17843/rpmesp.2021.382.6202

7. García-Cedrón D, De La Cruz Noriega M, Cabanillas-Chirinos L, Otiniano NM, Rojas-Villacorta W, Salvatierra-Espinola W, et al. Carbapenemase-Producing Bacteria Isolated from ICU Patients of a Peruvian Government Hospital during the COVID-19 Pandemic: A Descriptive Analysis. Medicina (Kaunas). 2023 Oct 3;59(10):1763. doi:10.3390/medicina59101763

8. Cuicapuza D, Loyola S, Velásquez J, Fernández N, Llanos C, Ruiz J, et al. Molecular characterization of carbapenemase-producing *Enterobacterales* in a tertiary hospital in Lima, Peru. Andam CP, editor. Microbiol Spectr. 2024 Feb 6;12(2). doi:10.1128/spectrum.02503-23

9. Vizcaíno P, Cedeño R, Maldonado I. Metodología de la investigación científica: guía práctica. Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar. 2023 Sep 27;7(4):9723–62. doi:10.37811/cl_rcm.v7i4.7658

10. Firdaus F, Zulfadilla Z, Caniago F. Research Methodology : Types in the New Perspective. MANAZHIM. 2021 Feb 27;3(1):1–16. doi:10.36088/manazhim.v3i1.903

11. Pereyra L. Metodología de la investigación [Internet]. Klik; 2022 [cited 2025 Mar 1]. available from: https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=6e-keaaaqbaj&oi=fnd&pg=pp1&dq=metodolog%c3%ada+de+investigaci%c3%b3n&ots=whhmyihddq&sig=zqowus6vcjdooowizwgyh5znpj0&redir_esc=y#v=onepage&q=metodolog%c3%ada%20de%20investigaci%c3%b3n&f=false

12. Hernández R, Mendoza C. Metodología de la investigación: Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta (1ª ed.). [Internet]. McGraw Hill.; 2018 [cited 2025 Feb 6]. Available from: https://virtual.cuautitlan.unam.mx/rudics/?p=2612&utm_source

13. Coris BioConcept. O.K.N.V.I. RESIST-5: Prueba rápida de diagnóstico in vitro para la detección de Carbapenemasas OXA-48, KPC, NDM, VIM e IMP en cultivos bacterianos. 2020.

14. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing (33rd ed., CLSI supplement M100). CLSI. 2026.

15. Servicio Antimicrobianos IN de EIA "Dr. CGM. Protocolo de PCR múltiple para la detección de los genes blaKPC, blaOXA-48-like, blaVIM, blaIMP y blaNDM en bacilos Gram negativos (CBP-Multiplex).

16. Rebollo P, Ábalos E. Metodología de la investigación/recopilación [Internet]. Editorial Autores de Argentina; 2022 [cited 2025 Mar 1]. Available from: https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=vbWHEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT3&dq=metodolog%C3%ADa+de+investigaci%C3%B3n&ots=9ZIQoQhgZF&sig=fhDRiMCbRo0jbVWQ_hqMFvp6sxE&redir_esc=y#v=onepage&q=metodolog%C3%ADa%20de%20investigaci%C3%B3n&f=false

17. Arias J, Covinos M. Diseño y metodología de la investigación. Enfoques Consulting EIRL [Internet]. 2021 [cited 2025 Mar 1];1(1):66–78. Available from: https://gc.scalahed.com/recursos/files/r161r/w26022w/Arias_S2.pdf

ANEXOS

Anexo N°1. PRESUPUESTO

Ítem	Rubro	Descripción general	Costo estimado (S/.)
1	Materiales de laboratorio	Insumos generales para cultivo, conservación y análisis de muestras microbiológicas	1,400.00
2	Reactivos de laboratorio	Reactivos generales para pruebas fenotípicas y genotípicas	8,000.00
3	Uso de equipos e infraestructura	Uso de equipos de laboratorio y áreas especializadas	1000.00
4	Materiales de oficina	Papelería, impresión y encuadernación del informe final	400.00
5	Procesamiento y análisis de datos	Organización, análisis y almacenamiento de información	200.00
6	Imprevistos	Gastos no previstos durante la ejecución del estudio	400.00
Total general			**S/ 11,400.00**

Anexo N° 2: CRONOGRAMA

N.º	Etapas	2025			2026												2027	
		O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F
1	Revisión Bibliográfica	X																
2	Elaboración y diseño del proyecto	X	X															
3	Redacción del proyecto		X															
4	Aprobación del proyecto por el comité de ética			X														
5	Aplicación (recolección de muestras, aislamiento bacteriano, ejecución de pruebas y métodos fenotípicos y genotípicos)				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
6	Procesamiento de la información																X	
7	Interpretación y Análisis de la información																X	
8	Redacción de los resultados																X	
9	Revisión y Corrección del informe final																X	X
10	Presentación del informe final																	X

Anexo Nº 3: BASE DE DATOS

ID	TIPO DE MUESTRA							Servicios de Procedencia			Enterobacterales Identificados(Género y Especie)	Perfil de Sensibilidad a Carbapenemicos			Pruebas de Caracterización Fenotípica		PCR Multiplex-Identificación de Genes (bla_{KPC}, bla_{NDM}, bla_{IMP}, bla_{VIM}, bla_{OXA-48})
	Orina	Sangre	Aspirados Traqueales	Heridas	Partes Blandas	Liquidos de Punción	Abscesos	Emergencia	UCI	Hospitalización		S	I	R	mCIM	Inmunocromatografia	