

## Diagnóstico microbiológico de la resistencia a carbapenémicos en Enterobacterales: una actualización necesaria

Microbiological diagnosis of carbapenem resistance in Enterobacterales: a necessary update

Alina Choy Marrero<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0002-0726-2906>

<sup>1</sup>Hospital Provincial Universitario Ginecoobstétrico «Mariana Grajales». Villa Clara. Cuba.

\*Autor para la correspondencia [alinachm@infomed.sld.cu](mailto:alinachm@infomed.sld.cu)

### RESUMEN

**Introducción:** Uno de los mayores desafíos sanitarios en la actualidad, es la resistencia a carbapenémicos, que constituye este grupo de antimicrobianos, una de las pocas opciones terapéuticas a emplear en bacilos gramnegativos multidrogoresistentes.

**Objetivo:** Describir las aproximaciones teórico-metodológicas para la identificación de la resistencia a carbapenémicos en Enterobacterales, a partir de evidencias publicadas como resultados de investigaciones.

**Métodos:** Se realizó una revisión sistemática en Google Académico de la literatura científica, se consultaron las bases de datos de Web of Science, PubMed y Scopus, según establece la metodología PRISMA 2020; se utilizaron los operadores booleanos (AND, OR, NOT) y se incluyeron 32 artículos de libre acceso en inglés y español publicados entre los años 2014 al 2024,

relacionados con el diagnóstico microbiológico de la resistencia a carbapenémicos en Enterobacterales, según los criterios de elegibilidad planteados.

**Resultados:** Se determinó que el principal mecanismo de resistencia a los carbapenémicos en Enterobacterales es la producción de enzimas carbapenemasas, que hidrolizan el anillo  $\beta$ -lactámico y presentan perfiles de resistencia distintos según su tipo. Se describieron varios métodos de identificación (fenotípicos y genotípicos), con valores de sensibilidad y especificidad dispares. Se identificaron desafíos importantes en el diagnóstico, tales como la resistencia heterogénea, la coexistencia de múltiples mecanismos que requieren enfoques combinados de técnicas diagnósticas y la interpretación final de los resultados.

**Conclusiones:** La detección oportuna de la resistencia a carbapenémicos en Enterobacterales, requiere de un enfoque multidisciplinario y precisa de integrar los métodos fenotípicos y genotípicos, adaptados a la epidemiología local y a las condiciones de cada laboratorio.

**Palabras clave:** carbapenémicos, Enterobacteriaceae, enterobacteriaceae resistentes a los carbapenémicos, infecciones por Enterobacteriaceae

## ABSTRACT

**Introduction:** One of the greatest healthcare challenges today is carbapenem resistance. This group of antimicrobials is among the few therapeutic options available for multidrug-resistant Gram-negative bacilli.

**Objective:** To describe the theoretical and methodological approaches for identifying carbapenem resistance in Enterobacterales, based on evidence published as research results.

**Methods:** A systematic review of the scientific literature was conducted in Google Scholar. The Web of Science, PubMed, and Scopus databases were consulted, as established by the PRISMA 2020 methodology. Boolean operators (AND, OR, NOT) were used, and 32 open-access articles in English and Spanish published between 2020 and 2024 related to the microbiological diagnosis of carbapenem resistance in Enterobacterales were included, according to the established eligibility criteria.

**Results:** It was determined that the main mechanism of carbapenem resistance in Enterobacterales is the production of carbapenemase enzymes, which hydrolyze the  $\beta$ -lactam ring and exhibit different resistance profiles depending on their type. Several identification methods (phenotypic and genotypic) were described, with varying sensitivity and specificity. Significant diagnostic challenges were identified, including heterogeneous resistance, the coexistence of multiple mechanisms requiring combined diagnostic approaches, and the final interpretation of results.

**Conclusions:** Timely detection of carbapenem resistance in Enterobacterales requires a multidisciplinary approach and the integration of phenotypic and genotypic methods, adapted to local epidemiology and laboratory conditions.

**Keywords:** Carbapenems; Enterobacteriaceae; Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae; Enterobacteriaceae Infections

Recibido: 19/01/2025

Aprobado: 06/10/2025

## Introducción

En la actualidad, se estima que cada año, la muerte debida a infecciones causadas por patógenos bacterianos en el mundo es de 7,7 millones y de ellas, 1,27 millones son causadas por microorganismos resistentes a los antibióticos disponibles. <sup>(1)</sup>

Nadie escapa al fenómeno de la resistencia a los antimicrobianos (RAM), incluidos quienes nunca toman antibióticos, como los recién nacidos, pues enfrentan las consecuencias de la presión selectiva ejercida por generaciones anteriores. <sup>(1,2)</sup>

La Organización Mundial de la Salud, en el año 2017, publica una lista de patógenos prioritarios bacterianos (*BPPL*, siglas en inglés), actualizada en el año 2024 e incluyen a 15 familias de patógenos agrupados en tres categorías: críticas, altas y medias de prioridad, para la investigación, el desarrollo de nuevos tratamientos y establecimiento de las medidas de Salud Pública, necesarias para frenar el fenómeno de la RAM. <sup>(2)</sup>

En la *BPPL-2024*, se sitúa en el grupo de prioridad crítica: Enterobacterales resistentes a carbapenémicos (ERC) junto a otros microorganismos, que constituyen una amenaza a escala internacional, debido a: la incidencia de las enfermedades que producen, su capacidad de resistir a los tratamientos y de transmitir el material genético a otras bacterias. <sup>(2,3)</sup>

En la última década, la infección por ERC se convierte en un importante problema de Salud Pública, por la diseminación de clones de alto riesgo epidemiológico con una tendencia ascendente significativa de las infecciones asociadas a la asistencia sanitaria (IAAS). <sup>(4)</sup>

Esta emergencia se debe a una serie de mecanismos de resistencia implicados, como la producción enzimática ( $\beta$ -lactamasas de espectro extendido, BLEEs), la alteración de la permeabilidad de la membrana, la

presencia de enzimas carbapenemasas y de sistemas de expulsión activos, o la combinación de ellos. Sin embargo, el mecanismo de mayor repercusión clínica, microbiológica y epidemiológica es la producción de carbapenemasas. (4, 5, 6, 7)

Los microorganismos más implicados en el desarrollo de este tipo de resistencia son las bacterias gramnegativas. En primer lugar, *Klebsiella pneumoniae*, seguida de *Escherichia coli*. Ambos microorganismos liberan enzimas capaces de hidrolizar la mayoría de los  $\beta$ -lactámicos e incluyen los carbapenémicos; las mismas se clasifican en tres tipos: clases A, B y D. (4, 5, 6, 7, 8)

Todas ellas presentan una amplia distribución mundial, con comportamiento endémico, las prevalencias más elevadas están en la India, donde se destaca las carbapenemasas del tipo NDM (*New Delhi metallo  $\beta$ -lactamases*); en Estados Unidos, Israel, Grecia e Italia predominan las KPC (*Klebsiella pneumoniae Carbapenemases*), sin embargo, en Turquía, el Medio-Oeste y el norte de África, destacan las del tipo OXA-48 (Oxacilina). (7, 8)

En América Latina, la Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (ReLAVRA) reportan que, durante los años 2006 al 2010, la resistencia a carbapenémicos en *Klebsiella pneumoniae* resultaba un hallazgo, pero desde el 2019 los países notificaron un incremento lento pero sostenido que alcanza prevalencias por encima del 60% en algunos de ellos. (4)

Se describe en dos revisiones bibliográficas publicadas en 2017<sup>(9)</sup> y 2021<sup>(10)</sup>, la epidemiología de estas enzimas en Latinoamérica y el Caribe, la amplia diseminación de carbapenemasas del tipo KPC en toda la región, la cual llega a ser endémica en algunos países.

También se cita la presencia de las enzimas NDM y, en menor medida, IMP y VIM (imipenem-masas y Verona integron-encoded metallo- $\beta$ -lactamase), pero lo que más llama la atención es que ReLAVRA ha emitido alertas sobre el

incremento de estas enzimas, así como sobre la combinación de varios tipos de ellas. (4, 8, 9, 10)

Cuba no queda exenta de este fenómeno, y se comienza la vigilancia en el año 2010, en el Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK) en el departamento de IAAS. (11) Se describe en el 2011, el primer brote de ERC (*K. pneumoniae*) en La Habana (Hospital Hermanos Ameijeiras) y acorde a los datos de la vigilancia local del hospital, se detecta un aumento de carbapenemasas tipo metalo- $\beta$ -lactamasa durante el año 2013, con 5,9% de tipo NDM en comparación con 1,2% del tipo KPC. (12)

En el año 2022, Yu H,<sup>(13)</sup> en su tesis doctoral, concluye que, en esa institución, *Klebsiella pneumoniae* (71%), seguido de *Enterobacter cloacae* (12,9%), son los ERC más aislados, portadores en su mayoría de carbapenemasa NDM; además, describe el hallazgo de la enzima tipo VIM y establece una alerta epidemiológica que permite trazar estrategias para su control por parte de los directivos de Salud Pública.

Aparte de estos estudios citados con anterioridad, en Cuba, las investigaciones sobre esta temática son puntuales y escasas; en Villa Clara, no se conoce aún con exactitud la dimensión de este fenómeno, pues también se desconoce la existencia de estudios o publicaciones al respecto, que ayuden a interiorizar esta problemática en el contexto actual.

No obstante, se cuenta con datos de los comités de infecciones y los mapas microbiológicos de cada institución, que evidencian la presencia de ERC, desde el año 2019 de forma esporádica, sobre todo en la terapia intensiva del Hospital Provincial Pediátrico Docente «José Luis Miranda»; tras la pandemia en el 2020, hay un aumento de los mismos y continúa el reporte de casos hasta la fecha. (14)

Debido a la naturaleza plasmídica de los genes codificantes de estas enzimas y al fenotipo multiresistente de estas enterobacterias, el riesgo de

diseminación de estos mecanismos de resistencia es muy elevado y, sumado a la coexistencia de mecanismos de resistencia a polimixinas, limita el tratamiento antimicrobiano de estos patógenos. <sup>(4)</sup>

Por lo tanto, para trazar estrategias de salud en la prevención y el control de la “epidemia del siglo XXI”, como se conoce al fenómeno de la resistencia antimicrobiana, se precisa contar con conocimientos sobre las diferentes pautas del diagnóstico microbiológico para caracterizar los mecanismos que provocan la resistencia a los carbapenémicos.

Por ello, se realiza una revisión sistemática con el objetivo de, describir las aproximaciones teórico-metodológicas en la identificación de la resistencia a carbapenémicos en Enterobacterales, a partir de evidencias publicadas como resultados de diferentes investigaciones.

## Métodos

Se realizó una revisión sistemática en Google Académico (motor de búsqueda web administrado por Google), de la literatura científica referente a la identificación en el laboratorio de la resistencia a carbapenémicos en Enterobacterales.

Se consultaron las bases de datos Web of Science, PubMed y Scopus, según lo establecido en la metodología PRISMA 2020. Se utilizaron los operadores booleanos (AND, OR, NOT) y los descriptores DeCS/MeSH: carbapenémicos, Enterobacteriaceae, enterobacteriaceae resistentes a los carbapenémicos, infecciones por enterobacteriaceae.

Se incluyeron artículos de libre acceso en inglés y español, publicados entre los años 2014 y 2024 según los criterios de elegibilidad (inclusión/exclusión) siguientes:

- Inclusión:

- a) Reportes de resistencia a los carbapenémicos en Enterobacterales aislados de pacientes.
- b) Revisiones sistemáticas sobre carbapenemasas, su clasificación y su identificación fenotípica y genotípica.
- c) Metodología utilizada para la determinación de carbapenemasas según las pautas del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, por sus siglas en inglés).

Exclusión:

- a) Aquellos artículos que incluyeron el análisis de distintas familias de bacterias multirresistentes, que pudieron interferir en los resultados del presente trabajo, como *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*.
- b) Diagnóstico de carbapenemasas en la búsqueda de portadores de ERC.
- c) Metodología de identificación de carbapenemasas según el Comité Europeo de Evaluación de la Sensibilidad Antibiótica (EUCAST).
- d) Estudios en animales, revisiones narrativas y casos clínicos.
- e) Métodos diagnósticos no validados o sin comparación con el estándar.

EndNote X7 se utilizó como paquete informático de gestión de referencias, con lo cual se obtuvo una base bibliográfica de 64 artículos, entre los que se incluyen artículos originales, estudios observacionales, revisiones sistemáticas, libros de texto y metaanálisis. Se seleccionaron 32 artículos de mayor relevancia y novedad para el objetivo planteado, tras aplicar los criterios de búsqueda, selección y exclusión, expuestos con anterioridad. Se agrupó la literatura en función de la materia de estudio para realizar un análisis ordenado (revisión de títulos y resúmenes), y se procedió a la lectura completa de los textos, la cual determinó la elegibilidad final.

Posteriormente, se seleccionó aquella información considerada relevante dentro de los objetivos establecidos al inicio del trabajo para, finalmente, plasmar en el presente documento los aspectos más actuales relacionados con la temática investigada.

## Desarrollo

Enterobacteriales están comúnmente relacionados con enfermedades humanas, aunque muchos de sus miembros también forman parte de la flora intestinal normal. (4, 5, 6, 7)

Constituye un orden de bacterias gramnegativas conformado por siete familias, dentro de ellas se encuentran, la familia *Enterobacteriaceae* (incluye géneros como *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, entre otros), *Yersiniaceae* (*Yersinia* y *Serratia*) y *Morganellaceae* (*Morganella*, *Proteus* y *Providencia*), entre otras. (4, 5, 6, 7)

Son microorganismos ubicuos, se describen como bacilos gramnegativos, no esporulados, anaerobios facultativos, de un tamaño intermedio (0,3 a 1,0 x 1,0 a 6,0  $\mu\text{m}$ ). Crecen en medios universales, como por ejemplo Agar Sangre tanto humana como de carnero, en medios selectivos y diferenciales, como Agar de MacConkey. (15)

Presentan requerimientos nutricionales sencillos: fermentan la glucosa, reducen los nitratos y son catalasas positivas y oxidasas negativas, lo que ayuda a su identificación en el laboratorio. (15)

*Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* y *Enterobacter spp.* ocupan los primeros lugares en la epidemiología de las IAAS en varios países. Las opciones terapéuticas son escasas debido a que los elementos genéticos móviles que transportan  $\beta$ -lactamasas incluyen, además, determinantes de resistencia a otras familias de antimicrobianos. (15)

Una de las opciones de tratamiento para este grupo de microorganismos, son los carbapenémicos (Ertapenem, Imipenem, Meropenem y Doripenem), que presentan una actividad bactericida de amplio espectro. Su estructura le confiere protección frente a la mayoría de las  $\beta$ -lactamasas, incluidas las BLEEs. <sup>(8)</sup>

Hasta la fecha, las opciones de tratamiento para las infecciones por ERC son muy limitadas. Las polimixinas (Polimixina B y Colistina), Tigeciclina, Fosfomicina y aminoglucósidos, son muchas veces las únicas opciones sensibles a pesar de las limitaciones técnicas en el tamizaje por el laboratorio. <sup>(15,16)</sup>

### **Generalidades de los carbapenémicos**

Son miembros de la clase de los  $\beta$ -lactámicos en los que, a diferencia de las penicilinas, el sistema de anillos fusionados 4:5 de los carbapenémicos no está saturado y no contiene azufre anular; en cambio, el azufre es un sustituyente en C2. La configuración trans de C5-C6 y el sustituyente C-6 (R)-hidroxietilo proporcionan una mayor resistencia frente a las  $\beta$ -lactamasas. <sup>(16)</sup>

Los carbapenémicos que contienen anillos de pirrolidina sustituidos (Meropenem, Ertapenem y Doripenem) son particularmente potentes, ya que protege el anillo  $\beta$ -lactámico, de la acción de algunas enzimas degradantes. <sup>(16, 17,18)</sup>

### **Mecanismos de resistencia a carbapenémicos en Enterobacterales**

Son complejos y suelen involucrar una combinación de estrategias bioquímicas y genéticas, que impiden la acción de estos antimicrobianos. El mecanismo más relevante, es la producción de carbapenemasas, las mismas pueden ser cromosómicas o codificadas por plásmidos, estas últimas son las más frecuentes. <sup>(7, 15, 16, 17, 19)</sup>

Los genes que las codifican están ubicados principalmente en elementos genéticos que favorecen su persistencia (integrones) y su transmisión (plásmidos, transposones), lo que contribuye a su rápida dispersión entre bacterias. Las cepas de ERC portadoras de dos o más genes de resistencia a las carbapenemasas, también son comunes. (19, 20, 21)

Además, intervienen mecanismos combinados como la hiperproducción de BLEEs y cefalosporinas AmpC, con cambios en la pared celular (mutaciones en proteínas de la membrana externa) que, pueden causar una disminución de la permeabilidad (como por ejemplo, la pérdida de las porinas OmpK35/OmpK36 en *Klebsiella pneumoniae*) o la sobreexpresión de las bombas de eflujo, lo que limita el acceso de los fármacos a su diana. (7, 15, 16, 17, 19)

### Clasificación de las carbapenemasas

Según la clasificación Ambler, basada en las características estructurales y funcionales, se distinguen tres clases:

- Clase A (serino- $\beta$ -lactamasas): presentan un residuo de serina en su centro activo. Incluye las KPC, imipinemasas no metalocarbapenemasas (IMP/NMC), *Serratia marcescens Enzyme* (SME), *Guiana Extended-Spectrum* (GES) y *Serratia fonticola Carbapenemasas* (SFC), entre otras. (7, 8, 21, 22)

Tienen la capacidad de hidrolizar un amplio espectro de sustratos: carbapenémicos, penicilinas, cefalosporinas y monobactámicos; no se inhiben por ácido clavulánico (lo hidrolizan), pero sí por avibactam, vaborbactam y relebactam. (7, 8, 21, 22)

- Clase B (metalo- $\beta$ -lactamasas <MBLs>): presentan un ión metálico (zinc) como cofactor enzimático. Dentro de este grupo se encuentran las NDM, *Verona integron-encoded metallo- $\beta$ -lactamase* (VIM), *imipenemase metallo- $\beta$ -lactamase* (IMP), *Sao Paulo metallo- $\beta$ -lactamase* (SPM).

Estas enzimas, tienen la capacidad de no hidrolizar el Aztreonam (elemento que sirve para su diagnóstico presuntivo) y son inhibidas por el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) pero no por el ácido clavulánico. (7, 8, 21, 22)

- Clase D (oxaciclinasas): tienen la capacidad adicional de hidrolizar oxaciclina y cloxacilina. Dentro de este grupo, destacan las enzimas OXA-48-like. En concreto, OXA-48 y OXA-181, son particularmente interesantes por su escasa capacidad para hidrolizar carbapenémicos y cefalosporinas de tercera generación. No obstante, ni el ácido clavulánico ni el EDTA han demostrado eficacia en disminuir su mecanismo de acción, por lo que todas difieren en el patrón de resistencia que inducen. (6, 7, 8, 21, 22)

La clase C de  $\beta$ -lactamasas (AmpC) no es considerada intrínsecamente un grupo de carbapenemasas; sin embargo, juega un papel determinante en la resistencia a los carbapenémicos al coexistir con mecanismos de impermeabilidad de la membrana y/o bombas de eflujo. (18)

### **Métodos de diagnóstico microbiológico convencionales**

El Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) define ERC como Enterobacterales con resistencia *in vitro* a cualquier carbapenémico o con la presencia de un gen carbapenemasa incluso en ausencia de resistencia demostrada *in vitro*. (20)

Según refiere el director del programa de proeficiencia en Microbiología Médica de PROA-SECAL (Programa de aseguramiento de la calidad en los laboratorios) en Colombia y asesor del CLSI, profesor Germán Esparza: "...el desarrollo y la implementación de opciones de control y manejo para la infección por ERC dependen en gran medida de la detección e identificación eficientes y confiables en el laboratorio". (23)

Sin embargo, su detección en la actualidad, representa un gran desafío, pues no existe una prueba de laboratorio 100% sensible y específica, para detectar

todas las familias de carbapenemasas ni todas las variantes alélicas conocidas. <sup>(23)</sup>

Debido a ello, el CLSI establece puntos de corte para su detección; considera que el uso del disco de ertapenem es el más sensible, pero el meropenem ofrece los mejores valores de sensibilidad y especificidad. Los puntos de interrupción de la concentración mínima inhibitoria (CMI) se emplean para confirmar las pruebas de sensibilidad por difusión. <sup>(24)</sup>

Los aislados con CMI de carbapenémicos elevados (intermedios o resistentes) pueden someterse a pruebas de producción de carbapenemasas mediante ensayos fenotípicos y moleculares. <sup>(23, 24)</sup>

Los puntos de corte de sensibilidad para Enterobacterales, según CLSI 2024 <sup>(24)</sup> son: Ertapenem  $\geq 22$  mm, Imipenem, Meropenem y Doripenem  $\geq 23$  mm.

En aquellos aislados con categorías intermedias, tanto por la prueba de difusión con discos como en la detección de la CIM (E- test <épsilon test>, dilución), la eficacia clínica del tratamiento con carbapenémicos de las infecciones es incierta, debido a la falta de estudios clínicos controlados. <sup>(24)</sup>

Una vez confirmado un aislado como ERC (con puntos de corte intermedios o resistentes), se procede a identificar los mecanismos de resistencia implicados y a clasificarlos. Estos métodos pueden clasificarse, en términos generales, en métodos basados en el fenotipo y en métodos basados en el genotipo. <sup>(23, 24)</sup>

## **Métodos de detección de carbapenemasas**

### **Técnicas fenotípicas**

Los métodos de detección que responden a los caracteres para su identificación son las pruebas de captura que detectan, presencia o ausencia de la enzima y dentro de estos se encuentran:

- Triton Hodge modificado (*MHT*, siglas en inglés): Este enfoque basado en el crecimiento se utilizó ampliamente para detectar a los productores de carbapenemasa, hasta el año 2018, cuando se eliminó del CLSI M-100 debido a su escasa especificidad, baja sensibilidad y consumo de tiempo. (8, 24)

-Ensayos colorimétricos: Carba NP (prueba de carbapenemasa de Nordmann-Poirel), es una de las técnicas fenotípicas estándar recomendadas por el CLSI y se presentó por primera vez en el año 2012. (8, 18, 24, 25)

Se basa en que el imipenem es hidrolizado por la carbapenemasa, lo que provoca variación en el pH, que se detectan por los cambios de color en el indicador de pH (rojo fenol). Esta técnica es rápida ( $\leq 2$ h), rentable, sensible ( $> 90\%$ ) y específica ( $> 90\%$ ) en comparación con otros métodos fenotípicos. (8, 18, 24, 25)

Limitaciones: Se requieren reactivos especiales, algunos de los cuales requieren preparación interna, tienen una vida útil corta y no permiten determinar el tipo de carbapenemasa. (18, 25)

Se producen resultados no válidos con algunos aislados con ciertos tipos de carbapenemasas (como las de tipo OXA, de codificación cromosómica y algunas de clase A como: GES-5 y SME-1, ya que tienen una baja actividad de hidrólisis de imipenem). Por lo tanto, si se sospecha OXA-48 o si los aislados son mucoides, no se debe utilizar este procedimiento. (18, 25)

Para optimizar el ensayo Carba NP, ha surgido una serie de derivados, como la prueba NitroSpeed-Carba NP, que mejoró la sensibilidad de las clases A, B y D en 100 %, 97 % y 100 %, respectivamente, y redujo el tiempo a 30 minutos. (25)

El Carba NP test en chip, evaluado por Wasey y colaboradores,<sup>(26)</sup> indica que este nuevo ensayo puede detectar con precisión todos los principales Enterobacteriales productores de carbapenemasas, incluidos los productores de OXA-48, con alto rendimiento, operación automatizada y bajo costo; esta

metodología de microfluidos puede proporcionar un dispositivo de diagnóstico confiable para la detección rápida en entornos clínicos.

- Método de inactivación de carbapenémicos modificado (m-CIM): Se introdujo por primera vez en 2015. Este método detecta la inactivación de los carbapenémicos por los organismos productores de carbapenemasa. M-CIM se utiliza en Enterobacterales y *P. aeruginosa*, mientras que e-CIM (con EDTA) se utiliza junto con m-CIM para diferenciar metalo- $\beta$ -lactamasas de serino-carbapenemasas en Enterobacterales. (8, 24,25)

El m-CIM, demostró una sensibilidad > 99% y una especificidad > 99% para la detección de carbapenemasas de tipo KPC, NDM, VIM, IMP, IMI, SPM, SME y OXA y el método de e-CIM demostró una sensibilidad >95% y una especificidad > 92% para la diferenciación de metalo- $\beta$ -lactamasas (NDM, VIM e IMP) de serino-carbapenemasas (KPC, OXA y SME). (24, 25)

- Medios cromogénicos para carbapenemasas: contienen sustratos específicos que, al ser hidrolizados por las enzimas, liberan cromóforos que producen un cambio de color visible (CHROMagar KPC, Brilliance CRE, chromID Carba, CHROMagar™ y mSuperCARBA™). (8,18, 25)

Esta tecnología permite una identificación presuntiva rápida (24-48 h) frente a los métodos tradicionales, presenta una alta especificidad (91,2%) y simplicidad, pues se realiza una interpretación visual directa sin necesidad de equipos complejos y facilita reconocer los cultivos mixtos. (8,18, 25)

Limitaciones: Falsos negativos sobre todo en OXA-48 like, interpretación subjetiva (cambios de color ambiguos), aunque posee una alta especificidad requiere de confirmación y su resultado depende del inóculo (homogenización y cantidad suficiente). (25)

Una vez obtenido un resultado positivo en cualquiera de las pruebas mencionadas con anterioridad (métodos de captura), se pasa a las pruebas de

diferenciación para la clasificación enzimática, estas son: los ensayos inmunocromatográficos (IC) y prueba con inhibidores.

- Ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral múltiple (se basa en la interacción antígeno-anticuerpo), por ejemplo: el kit OKNV detecta carbapenemasas similares a OXA-48, KPC, NDM y VIM en dos casetes de flujo lateral. En los últimos años, el Coris Resist-4 O.K.N.V. ha ganado terreno principalmente por su rapidez, al proporcionar resultados en 15 minutos y valores de sensibilidad y especificidad cercanos al 100%.<sup>(27)</sup>

Los kits comerciales (pruebas KPC-k-set y OXA-48 K-set) combinan principios nanotecnológicos y la interacción antígeno-anticuerpo para detectar enzimas similares a OXA-48, con un 100% de sensibilidad y especificidad en solo 10 minutos, y pueden utilizarse directamente en muestras clínicas como hemocultivos e hisopados.<sup>(18)</sup>

En España, Serrano y colaboradores<sup>(28)</sup>, realizaron una comparación entre dos métodos diagnósticos: uno inmunocromatográfico (NG-Test Carba-5) para la detección de las 5 principales familias de carbapenemasas y  $\beta$ -Carba test (método colorimétrico). Y concluyen que el uso de  $\beta$ -Carba como prueba de cribado, seguido de una prueba inmunocromatográfica, permite identificar las carbapenemasas más prevalentes.

- Ensayo con inhibidores: El ácido borónico (APB) inhibe carbapenemasas de clase A; el ácido dipicolínico y el EDTA, inhiben carbapenemasas de clase B. La cloxacilina, que inhibe las beta-lactamasas AmpC, se añade a las pruebas para diferenciar entre la hiperproducción de AmpC más pérdida de porinas y la producción de carbapenemasas. La mayor desventaja de estos métodos es que hay que esperar unas 18 horas para obtener los resultados.<sup>(24, 29)</sup>

La prueba de sinergia consiste en colocar a una distancia de 15 mm los discos de imipenem, meropenem y el inhibidor (APB, EDTA, cloxacilina) y se produce

un aumento del halo de inhibición de los carbapenémicos hacia el lado del disco con el inhibidor (“efecto huevo”). (24, 29, 30, 31)

Otro método descrito, es el de discos combinados (MER- MER/EDTA, MER- MER/BOR), en el cual es positivo cuando es  $\geq 5$  mm la medida del halo del disco que tiene el inhibidor con respecto al que solo tiene el carbapenémico. (24, 29, 30, 31)

Esta última metodología también se aplica en los laboratorios en forma de e-test: son tiras con gradientes de concentración del antibiótico en un extremo y, en el otro, se encuentra asociado el carbapenémico a inhibidores. Una lectura de más de tres diluciones en el extremo que presenta el inhibidor se considera positiva. (24, 29, 30, 31)

### **Métodos genotípicos de detección**

Existe gran diversidad de técnicas moleculares basadas en la detección de ácidos nucleicos (AN) (métodos genéticos) que tienen una elevada sensibilidad y especificidad; estas se pueden utilizar a partir de colonias o de muestra directa y son: (29, 30, 31)

- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR simple, PCR anidada, PCR múltiple, RT-PCR) como PCR en tiempo real: son más fiables y precisas que otras técnicas. La base de los enfoques moleculares es, la identificación de los determinantes genéticos de la carbapenemasa. (18, 22, 30, 31, 32)

Aunque, en los últimos años se utiliza cada vez, con mayor frecuencia, otras alternativas de menor coste y más rápidas, como las técnicas de amplificación isotérmica (LAMP). Existen tres grandes grupos de técnicas de amplificación de AN en tiempo real: técnicas basadas en la amplificación de la diana (PCR, NASBA, entre otras), técnicas de amplificación de la señal (bDNA, captura de híbridos) y técnicas de amplificación de la sonda (LCR). (18, 29)

El rango de sensibilidad de las técnicas basadas en PCR es del 97 al 100%. Estas técnicas, exigen conocimientos especializados y equipos costosos a pesar de ser susceptibles y rápidos. (25, 31)

- Ensayo de GeneXpert Carba: basado en qRT-PCR, detecta y distingue entre las familias más prevalentes de genes de carbapenemasas (KPC, NDM, VIM, IMP-1, OXA-48, OXA-181 y OXA-232) en 48 minutos. (32)

- Film array: es una técnica desarrollada para estudiar múltiples genes al mismo tiempo, se puede hacer a partir de varias muestras, como hemocultivos, esputos y lavado bronquioalveolar. Su principio es la hibridación de la muestra objetivo con sondas; este enfoque para identificar infecciones tiene un alto rendimiento, pero requiere mano de obra calificada y es costoso. (8, 30, 31)

### **Métodos moleculares avanzados**

- Espectrometría de masas de tiempo de vuelo de desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI-TOF MS): es un método ópticamente dependiente, que podría detectar productos de degradación de carbapenémicos y picos de proteínas asociados a la carbapenemasa. (8, 18, 29, 31)

Esta técnica proteómica tiene una buena especificidad y sensibilidad (97%) y un tiempo de análisis corto (~4 horas), pero requiere mejoras adicionales debido a sus altos requisitos de equipo, su escasa simplicidad y la falta de una amplia base de datos de genes. (18, 30)

- Secuenciación del genoma: aporta mucha información sobre todos los posibles mecanismos de resistencia, esclarece los tipos de plásmidos que portan los genes que ocasionan las resistencias, el linaje evolutivo de la bacteria en cuestión y la posible relación entre diferentes aislamientos, lo que facilita la identificación del foco de un brote. Actualmente, debido a su elevado

precio y a la necesidad de material especializado, no está disponible en la práctica clínica. (31, 32)

Las limitaciones más relevantes de las técnicas moleculares genómicas son: su elevado coste y, en algunos casos, la necesidad de personal con experiencia en este tipo de técnicas y en herramientas bioinformáticas para analizar la información obtenida. (4, 31)

Preocupa cada vez más la aparición de Enterobacterales productores de carbapenemasas KPC con pruebas positivas para BLEEs que confunden la aproximación terapéutica o con resultados de completa sensibilidad a cefalosporinas de 3.<sup>a</sup>-4.<sup>a</sup> generación y carbapenémicos. Esto favorece una diseminación “silenciosa” de estas enzimas, ya que el laboratorio no aplicaría las pruebas confirmatorias. (23)

Unido al hecho de la posible aparición de coproducciones de enzimas, en las que las pruebas fenotípicas convencionales pueden no detectar la presencia de dos o más carbapenemasas, subestimando la presencia de alguna o ambas. Por lo tanto, la detección rápida y específica de las carbapenemasas es crucial para orientar las opciones terapéuticas y reducir la tasa de mortalidad. (23, 32)

La lectura interpretada del antibiograma es una labor compleja para el microbiólogo, ya que, aunque existen sistemas automatizados con reglas de expertos, la resistencia a los antimicrobianos está en continua evolución y se precisa de una actualización constante, además de establecer las pautas en cada laboratorio para el diagnóstico e identificación de los mecanismos de resistencia implicados.

## Conclusiones

La detección precisa y oportuna de la resistencia a carbapenémicos en Enterobacterales, requiere de un enfoque multidisciplinario y es prioridad

mantener actualizados los protocolos de identificación, que incluyan más de una estrategia (pruebas de captura y diferenciación), combinando diferentes metodologías a aplicar en aquellos aislamientos sospechosos de producir coproducciones de enzimas.

## Referencias bibliográficas

1. Okeke IN, de Kraker MEA, Van Boeckel TP, Kumar CK, Schmitt H, Gales AC, et al. The scope of the antimicrobial resistance challenge. The Lancet [Serie en internet]. 2024 [citado 1 jun 2024]; 403(10442):2426-2438. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/38797176>
2. WHO. Bacterial Priority Pathogens List, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. WHO Geneva: World Health Organization [Internet]. 2024 [citado 1 jun 2024]. Disponible en: <https://iris.who.int/handle/10665/376776>
3. Murray CJL, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Robles Aguilar G, Gray A, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. The Lancet [Serie en internet]. 2022 [citado 1 jun 2024]; 399(10325):629-55. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
4. Organización Panamericana de la Salud/ Organización Mundial de la Salud. Alerta epidemiológica: Emergencia e incremento de nuevas combinaciones de carbapenemasas en Enterobacteriales en Latinoamérica y el Caribe. Washington, D.C.: OPS/OMS [Internet]. 2021 [citado 1 jun 2024]: aprox. 8p. Disponible en: <https://www.paho.org/sites/default/files/2023-08/2021-octubre-phe-alerta-epi-carbapenamasassp.pdf>

5. García MP. Características, manejo clínico y pronóstico de las infecciones por Enterobacterales productores de carbapenemasas [Tesis]. Sevilla: Universidad de Sevilla; 2023. Disponible en:  
<https://hdl.handle.net/11441/155459>
6. Lucien MAB, Canarie MF, Kilgore PE, Jean-Denis G, Fénélon N, Pierre M, et al. Antibiotics and antimicrobial resistance in the COVID-19 era: Perspective from resource-limited settings. IJID [Internet]. 2021 [citado 1 jun 2024]; 104:250-4. Disponible en: [https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712\(21\)00016-3/pdf](https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712(21)00016-3/pdf)
7. Lirola L, Ávila AF, Fernández MA, Reinoso A, Martínez S. La resistencia bacteriana. Generalidades, carbapenemasas y actualidad: una revisión narrativa. AMU [Internet]. 2022 [citado 2 jun 2024]; 4(1):65-74. Disponible en: <https://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/75043/ES%20-%20Resistencias.pdf?sequence=1>
8. Calvo B, López MÁ. Estado actual de la resistencia a carbapenemes: epidemiología y aspectos microbiológicos. Actual Med [Internet]. 2022 [citado 2 jun 2024]; 107(816):aprox. 17p. Disponible en: [https://actualidadmedica.es/articulo/816\\_rev02/](https://actualidadmedica.es/articulo/816_rev02/)
9. Escandón K, Reyes S, Gutiérrez S, Villegas MV. The epidemiology of carbapenemases in Latin America and the Caribbean. Expert Rev Anti Infect Ther [Internet]. 2017 [citado 3 jun 2024]; 15(3):aprox. 30p. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/14787210.2017.1268918>
10. García JC, Appel TM, Esparza G, Gales AC, Levy G, Cornistein W, et al. Update on the epidemiology of carbapenemases in Latin America and the Caribbean. Expert Rev Anti Infect Ther [Internet]. 2021 [citado 3 jun 2024]; 19(2):aprox. 15p. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/14787210.2020.1813023>

11. Quiñones D. Alerta epidemiológica: emergencia de carbapenemasas tipo KPC y NDM-1 en Cuba. BOLIPK [Internet]. 2014 [citado 3 jun 2024]; 24(9):64. Disponible en: <https://files.sld.cu/ipk/files/2014/03/bol09-14.pdf>
12. Suárez B, Bustamante Y, Hart M, Romero MM, González A, Martínez ML. Caracterización de aislamientos intrahospitalarios de *Klebsiella pneumoniae* en un hospital terciario. Rev Cubana Med [Internet]. 2015 [citado 2 jun 2024]; 54(4):. Disponible en: Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75232015000400006&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232015000400006&lng=es)
13. Yu H. Estudio integral para la prevención y el control de Enterobacterales productores de carbapenemasas. Hospital "Hermanos Ameijeiras", 2017-2022 [Tesis]. Cuba: Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí"; 2022. Disponible en: <https://www.tesis.sld.cu>
14. Datos del Comité de Infecciones Hospitalarias. Departamento de Microbiología. Hospital Provincial Ginecobstétrico Universitario Mariana Grajales. Villa Clara. Cuba (2019-2023)
15. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Enterobacteriaceae. En: Medical Microbiology. 9th ed. Barcelona, España: Elsevier; 2021 .p.257-283.
16. Armstrong T, Fenn SJ, Hardie KR. JMM Profile: Carbapenems: a broad-spectrum antibiotic. Journal of medical microbiology [Internet]. 2021 [citado 21 jun 2024]; 70(12). Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.001462>
22. De Rosa M, Verdino A, Soriente A, Marabotti A. The Odd Couple(s): An Overview of Beta-Lactam Antibiotics Bearing More Than One Pharmacophoric Group. Int J Mol Sci. [Internet]. 2021 [citado 21 jun 2024]; 22(2):617. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/>

23. Rabaan AA, Eljaaly K, Alhumaid S, Albayat H, Al-Adsani W, Sabour AA, et al. An Overview on Phenotypic and Genotypic Characterisation of Carbapenem-Resistant Enterobacterales. *Medicina* [Internet]. 2022 [citado 21 jun 2024]; 58(11):1675. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1648-9144/58/11/1675>
24. Ahmed N, Tahir K, Aslam S, Cheema SM, Rabaan AA, Turkistani SA, et al. Heavy Metal (Arsenic) Induced Antibiotic Resistance among Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase (ESBL) Producing Bacteria of Nosocomial Origin. *Pharmaceuticals (Basel)* [Internet]. 2022 [citado 22 jun 2024]; 15(11):1426. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1424-8247/15/11/1426>
25. Mackow NA, van Duin D. Reviewing novel treatment options for carbapenem-resistant Enterobacterales. *Expert Rev Anti Infect Ther* [Internet]. 2024 [citado 22 jun 2024]; 22(1-3):71-85. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/38183224>
26. Ma J, Song X, Li M, Yu Z, Cheng W, Yu Z, et al. Global spread of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: Epidemiological features, resistance mechanisms, detection and therapy. *Microbiol Res* [Internet]. 2023 [citado 21 jun 2024]; 266:127249. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501322002890>
27. Noster J, Thelen P, Hamprecht A. Detection of multidrug-resistant Enterobacterales—from ESBLs to carbapenemases. *Antibiotics* [Internet]. 2021 [citado 21 jun 2024]; 10(9):1140. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2079-6382/10/9/1140>
28. Esparza G. Bacterias Gram negativas resistentes a carbapenémicos en Colombia: un desafío continuo al sistema de salud. *Infectio* [Internet]. 2020 [citado 12 jun 2024]; 24(2):55-6. Disponible en: [https://www.revistainfectio.org/P\\_OJS/index.php/infectio/article/view/831/927](https://www.revistainfectio.org/P_OJS/index.php/infectio/article/view/831/927)

29. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing supplement M100. 34 ed. Pensilvania, Estados Unidos: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2024. Disponible en: [https://www.darvashco.com/wp-content/uploads/2024/07/CLSI-2024\\_compressed-1.pdf](https://www.darvashco.com/wp-content/uploads/2024/07/CLSI-2024_compressed-1.pdf)

30. Nordmann P, Sadek M, Demord A, Poirel L. NitroSpeed-Carba NP test for rapid detection and differentiation between different classes of carbapenemases in Enterobacterales. *Journal of clinical microbiology* [Internet]. 2020 [citado 21 jun 2024]; 58(9):10.1128/jcm.00932-20. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/jcm.00932-20>

31. Wasey A, Yang J, Sun D, He Y, Zhang C. On-chip Carba NP test for accurate and high throughput detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Talanta* [Internet]. 2020 [citado 22 de jun 2024]; 210:120656. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039914019312895?via%3Dihub>

32. Song W, Park MJ, Jeong S, Shin DH, Kim JS, Kim HS, et al. Rapid Identification of OXA-48-like, KPC, NDM, and VIM Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae From Culture: Evaluation of the RESIST-4 O.K.N.V. Multiplex Lateral Flow Assay. *Ann Lab Med* [Internet]. 2020 [citado 20 jun 2024]; 40(3):259-63. Disponible en: <https://www.annlabmed.org/journal/view.html?doi=10.3343/alm.2020.40.3.259>

33. Serrano JM, Roman A, Navarro JM, Gutierrez J. The beta Carba(R) test can quickly determine the carbapenemases in the microbiology laboratory. *Rev Esp Quimioter* [Internet]. 2024 [citado 21 jun 2024]; 37(2):186-8. Disponible en: <https://seq.es/wp-content/uploads/2024/02/serrano13feb2024.pdf>

34. Sarango C, Macías A. Identificación de enterobacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Universitario Católico de Cuenca. *Revistavive*

[Internet]. 2024 [citado 22 jun 2024] 7(20):359-70. Disponible en:

<https://revistavive.org/index.php/revistavive/article/view/452/1154>

35. López I, López L, Fernández F, Pascual Á. El papel del laboratorio de microbiología en el diagnóstico de infecciones por bacilos gramnegativos multirresistentes. Importancia de la determinación de mecanismos de resistencias. Medicina Intensiva [Internet]. 2022 [citado 22 jun 2024]; 46(8):455-64]. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0210569122000171>

36. Parreño NH, Martínez ÁS. Evaluación de dos técnicas fenotípicas y un panel molecular multiplex comercial para la detección de diferentes carbapenemasas. Rev Esp Quimioter. [Internet]. 2023 [citado 20 jun 2024]; 36(6):655. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10710674/?report=classic>

37. Gao N, Zhou J, Li G, Liu R, Lu G, Shen J. Methodological Evaluation of Carbapenemase Detection by Different Methods. Pol J Microbiol [Internet]. 2024[citado 20 dic 2024]; 73(3): 383-394. Disponible en:

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11395418/>

### **Conflicto de intereses**

Se declara que no existen conflictos de interés.