



FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS Y
CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS EN PACIENTES HOSPITALIZADOS EN EL
HOSPITAL NACIONAL HIPÓLITO UNANUE, 2014 - 2018

Línea de investigación:

Salud pública

Tesis para optar el título de Especialista en Microbiología

Autor:

Champi Merino, Roky Giovanni

Asesor:

Rojas León, Roberto Eugenio
(ORCID: 0000-0002-5803-9659)

Jurado:

Guerrero Barrantes, Cesar Enrique
Garay Bambaren, Juana Amparo
Rojas Hernández, Bertha Aide

Lima - Perú

2021



Referencia:

Champi, R. (2021). *Enterobacterias productoras de Carbapenemasas y características demográficas en pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 - 2018* [Tesis de segunda especialidad, Universidad Nacional Federico Villarreal]. Repositorio Institucional UNFV. <http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/5449>



Reconocimiento - No comercial - Sin obra derivada (CC BY-NC-ND)

El autor sólo permite que se pueda descargar esta obra y compartirla con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se puede generar obras derivadas ni se puede utilizar comercialmente.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS Y CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS EN PACIENTES HOSPITALIZADOS EN EL HOSPITAL NACIONAL HIPÓLITO UNANUE, 2014 - 2018.

LINEA DE INVESTIGACIÓN: SALUD PÚBLICA

Tesis para optar el Título de Especialista en Microbiología

AUTOR

Champi Merino, Roky Giovanni

ASESOR

Rojas León, Roberto Eugenio

JURADO

Guerrero Barrantes, Cesar Enrique

Garay Bambaren, Juana Amparo

Rojas Hernández, Bertha Aide

Lima – Perú

2021

Dedicatoria

*A mis Maestros y Doctores de la especialidad de
Microbiología de la Facultad de Tecnología Médica de la
Universidad Nacional Federico Villarreal, quienes me inspiraron,
A concretar mi formación y la investigación en Microbiología.*

*A mis colegas, compañeros de la Especialidad, por su apoyo
y el esfuerzo de grandes y buenos profesionales,
contribuyeron a lograr nuestras metas*

*A mi familia, mi compañera de vida, Diana gracias por todo, amor y paciencia
A mis hijos Fabio y Gonzalo, siempre serán un incentivo cuando lo necesite
Mi madre, su bendición y perseverancia me inculco seguir siempre adelante,
Mi padre, sus palabras fueron inspiración para lograr mis sueños
Mis hermanos y amigos, siempre con su aliento generoso.*

*A mis colegas, docentes, alumnos y amigos,
Los que me motivaron y me mantuvieron en el camino
Gracias Señor por toda la riqueza y tus bendiciones,
Amen.*

Agradecimientos

Al Mg. Roberto E. Rojas León, asesor de mi tesis, por el apoyo y orientación en el ámbito de la Microbiología para la culminación de la tesis.

A la Lic. María Silva, mi coordinadora y maestra de muchos otros colegas en el campo de la Microbiología, con ella aprendí algo nuevo cada día, un ejemplo de vida, muchas gracias por su paciencia y por todos sus consejos siempre.

Al Dr. Fernando Pasteran y Dra. Alejandra Corso del Servicio Antimicrobianos del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI) – ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán por su apoyo.

Al servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular del Hospital Nacional Hipólito Unanue, a todo el personal que ha colaborado con mis proyectos, y sin cuya participación, dedicación y esfuerzo no hubiera sido posible realizarla. En mis compañeros de labores Jannet, Elizabet, Guille, Johnny, Boris, Antonio, Mario, gracias por la paciencia y por qué con buenos compañeros se hace más fácil el camino cada día.

A todos aquellas amistades y colegas de la especialidad en Microbiología, por diferentes maneras, me han motivado y apoyado en la realización de la investigación.

¡Muchas gracias!

Roky G. Champi Merino

**ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS Y
CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS EN PACIENTES
HOSPITALIZADOS EN EL HOSPITAL NACIONAL HIPÓLITO
UNANUE, 2014 - 2018.**

AUTOR:

CHAMPI MERINO, ROKY GOVANNI

ASESOR:

Mg. ROJAS LEÓN, ROBERTO EUGENIO

Índice

	Página
Resumen	v
Abstract.....	vi
I. Introducción	1
1.1 Descripción y formulación del problema.....	3
1.2 Antecedentes.....	5
1.3 Objetivos	10
- Objetivo general.....	10
- Objetivos específicos	10
1.4 Justificación	11
1.5 Hipótesis	12
II. Marco teórico	13
2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación	13
2.1.1 Enterobacterias	12
2.1.2 Antibióticos Carbapenémicos.....	17
2.1.3 Métodos de detección de carbapenemasas	22
III. Método	32
3.1 Tipo de investigación.....	32
3.2 Ámbito temporal y espacial	32
3.3 Variables	32
3.4 Población y Muestra	33
3.5 Instrumentos	35
3.6 Procedimientos	35
3.7 Análisis de datos	36
3.8 Consideraciones éticas.....	37
IV. Resultados	38

V. Discusión de Resultados	55
VI. Conclusiones	67
VII. Recomendaciones	69
VIII. Referencias	70
IX. Anexos	79

ÍNDICE DE TABLAS

Contenido	Página
Tabla 1 <i>Frecuencia de especies de Enterobacterias aisladas en pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el periodo Enero 2014 – Diciembre 2018.....</i>	38
Tabla 2 <i>Frecuencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas en pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el periodo de estudio 2014 – 2018.....</i>	40
Tabla 3 <i>Distribución según el sexo de pacientes hospitalizados con aislamientos de Enterobacterias del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el periodo 2014 – 2018.</i>	42
Tabla 4 <i>Distribución según grupos de edad de los pacientes hospitalizados con aislamientos de entero bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.....</i>	43
Tabla 5 <i>Distribución de los pacientes hospitalizados con aislamientos de entero bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.....</i>	45
Tabla 6 <i>Frecuencia de las enterobacterias productoras de carbapenemasas según tipo de muestra, aisladas de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 - 2018.....</i>	47
Tabla 7 <i>Sensibilidad de antibióticos no betalactámicos en aislados clínicos de Klebsiella pneumoniae productores de carbapenemasa. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.....</i>	48
Tabla 8 <i>Sensibilidad a antibióticos no betalactámicos en aislados clínicos de Proteus mirabilis productores de carbapenemasa en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.....</i>	50
Tabla 9 <i>Perfil de resistencia a los antimicrobianos de enterobacterias productoras de carbapenemasas, Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2014 – 2018.....</i>	51
Tabla 10 <i>Distribución de la incidencia de aislamientos de enterobacterias productoras de carbapenemasas por año, Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.....</i>	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Contenido	Página
Figura 1 <i>Frecuencia de enterobacterias según producción de carbapenemasas aisladas de pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.....</i>	39
Figura 2 <i>Distribución de enterobacterias productoras de carbapenemasas en pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el periodo 2014 – 2018.....</i>	41
Figura 3 <i>Distribución según el sexo de los pacientes hospitalizados con aislamientos de entero bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.....</i>	42
Figura 4 <i>Distribución según grupos de edad de los pacientes hospitalizados con aislamientos de entero bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.....</i>	44
Figura 5 <i>Distribución de los pacientes hospitalizados con aislamientos de entero bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.....</i>	46
Figura 6 <i>Sensibilidad de antibióticos no betalactámicos en aislados clínicos de Klebsiella pneumoniae productora de carbapenemasa. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.....</i>	49
Figura 7 <i>Sensibilidad a los antibióticos en aislados clínicos de Proteus mirabilis productores de carbapenemasa en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.</i>	50
Figura 8 <i>Tendencia de la incidencia de aislamientos de enterobacterias productoras de carbapenemasas por año, Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.....</i>	54
Figura 9 <i>Esquema del método de inactivación de carbapenémicos.</i>	81

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A Matriz de consistencia.....	79
Anexo B Ficha de recolección de datos	80
Anexo C Método de inactivación de la carbapenemasa.....	81
Anexo D Aprobación del comité institucional de ética en investigación	82
Anexo E Lista de imágenes – Identificación de carbapenemasas	83

RESUMEN

Objetivo: Determinar la incidencia de Enterobacterias productoras de carbapenemasas y sus características demográficas en pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, Lima 2014 - 2018. **Método:** Estudio observacional, de diseño no experimental, descriptivo retrospectivo y transversal. En aislamientos de enterobacterias se determinó la sensibilidad a los antibióticos por el método de disco difusión y se identificó producción de carbapenemasas por métodos fenotípicos. Se registraron en el software Whonet 5,6 los datos microbiológicos y demográficos de todos los pacientes hospitalizados con aislamiento de Enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) durante los años 2014 al 2018 y se analizó mediante estadística descriptiva. **Resultados:** A partir de 4687 aislamientos se identificaron 305 cepas de EPC. Como especies más frecuentes *Klebsiella pneumoniae* (77,7%), seguida de *Proteus mirabilis* (9,8%). *K. pneumoniae* mostro menor resistencia frente a Amikacina (9,8%), doxiciclina (39,3%) y colistina (0,8%). La incidencia de EPC presento cambios a lo largo del tiempo. Los pacientes con aislamiento de EPC el 54,4% fueron mujeres, con una edad media de 53,2 +/- 20,9 años. Los servicios de procedencia más frecuente fueron: medicina interna 35,7%, cirugía 30,7% y unidad de terapia intensiva 18,6%. **Conclusión:** La incidencia de EPC en el Hospital Nacional Hipólito Unanue fue 6,5% entre 2014-2018, y presentó variaciones con una tendencia al aumento a través de los años. La mayor frecuencia de aislamientos procedió de medicina interna, cirugía y la unidad de terapia intensiva.

Palabras clave: *Enterobacterias, carbapenemasas, incidencia.*

ABSTRACT

Objective: To determine the incidence of carbapenemase-producing Enterobacteria and their demographic characteristics in hospitalized patients at the National Hospital Hipólito Unanue, Lima 2014 - 2018. **Method:** Observational study, non-experimental design, descriptive cross-sectional. In enterobacteria isolations, sensitivity to antibiotics was determined by the diffusion disc method and carbapenemase production was identified by phenotypic methods. Microbiological and demographic data for all patients hospitalized with isolation of carbapenemase-producing Enterobacteria were recorded in the Whonet 5,6 software during 2014 to 2018 and analyzed using descriptive statistics. **Results:** From 4687 isolations, 305 strains of EPC were identified. As more common species *Klebsiella pneumoniae* (77,7%), followed by *Proteus mirabilis* (9,8%). Showed lower resistance to Amikacin (9,8%), doxycycline (39,3%) and colistin (0,8%). The incidence of ECP has changes over time. 54.4% of patients with EPC isolation were women, with an average age of 53,2 +/- 20,9 years. The most commonly sourced services were: internal medicine 35.7%, surgery 30.7% and intensive care unit 18.4%. **Conclusion:** The incidence of EPC in the National Hospital Hipólito Unanue was 6.5% between 2014-2018, and presented variations with a tendency to increase over the years. The highest frequency of isolates in internal medicine, surgery and intensive care unit services. The incidence of EPC at the National Hospital Hipólito Unanue was 6.5% between 2014-2018, and presented variations with a tendency to increase over the years. The highest frequency of isolation came from internal medicine, surgery and the intensive care unit.

Keywords: *Enterobacteria, carbapenemases, incidence*

I. INTRODUCCIÓN

La resistencia a los antimicrobianos por bacterias de importancia clínica es un gran problema de salud pública en el Perú, y se mantiene vigente en pacientes del ámbito hospitalario. Actualmente, la emergencia de bacterias del orden enterobacterales, como las especies de los generos *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus* entre otros, con mecanismos de resistencia a antimicrobianos de última línea, han incrementado la prevalencia de este problema. (Alvim, Couto y Gazzinelli, 2019)

La presencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas con resistencia a antibióticos como imipenem, meropenem y otros, se han reportado en nuestro país desde el año 2013. (Sacsquispe & Bailón, 2018) Sin embargo, por su naturaleza es importante estudiar continuamente el comportamiento de la incidencia y las características demográficas de los pacientes que presentaron este tipo de aislamientos. Siendo necesario estudiar estos aspectos a fin de conocer su relación y la transición epidemiológica, los que nos permitirán establecer una base para nuevas investigaciones.

Los pacientes en servicios de hospitalización son más vulnerables de seleccionar cepas bacterianas con resistencia a los antimicrobianos, por la confluencia de varios factores como la estancia prolongada, uso de antimicrobianos de amplio espectro, infecciones en diferentes localizaciones entre otros; con un patrón diverso para orientar la limitada capacidad para el tratamiento.

Las publicaciones científicas sobre este problema en pacientes hospitalizados en nuestro país son escasas, encontrado resultados diversos y que generan incertidumbre, lo que justifica realizar más estudios que puedan resolver estas cuestiones.

En el presente estudio se recopiló datos microbiológicos y demográficos durante 5 años, de los pacientes que ingresaron a los servicios de hospitalización del Hospital Nacional Hipólito Unanue (HNHU) y que presentaron aislamientos de especies de Enterobacterias

productoras de carbapenemasas, para determinar su incidencia y características demográficas. El HNHU es un hospital de referencia de nivel III de la zona Lima Este, y acoge pacientes de varios distritos muy poblados de la ciudad de Lima.

Al observar la incidencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas se encontró diversas especies implicadas y variaciones de su frecuencia en el tiempo. Posteriormente, se realizó el análisis de las características demográficas de los pacientes hospitalizados que presentaron aislamiento de estos agentes a fin de conocer la epidemiología local, enfocándonos en la incidencia y características demográficas. Desarrollamos la investigación según se indica en los Capítulos:

- Capítulo I: Se refiere el planteamiento del problema, los antecedentes nacionales e internacionales, se formulan los objetivos (general y específicos) y la justificación.
- Capítulo II: En el marco teórico se describen las teorías generales y específicas sobre el tema.
- Capítulo III: En la metodología, se indica el tipo y diseño de investigación, indicando la población y la muestra, así como la operacionalización de las variables, las técnicas para el procesamiento, análisis de resultados y consideraciones éticas.
- Capítulo IV: Los resultados se presentan en tablas y figuras, y se registra el análisis descriptivo de las variables con la interpretación de las tablas.
- Capítulo V: Se discuten nuestros resultados comparándolos con otras investigaciones. Además, formulamos las conclusiones y recomendaciones en base a los objetivos y resultados de nuestro estudio.

1.1 Descripción y Formulación del Problema

La resistencia bacteriana es un problema de salud pública, que remarca su importancia por el aumento en su incidencia, así como por la aparición de nuevos

mecanismos de resistencia que limitan las alternativas terapéuticas. Con una mayor demanda por los servicios de hospitalización y las unidades de cuidados intensivos, que concentran la mayor incidencia de bacterias multiresistentes y las infecciones clínicas de mayor gravedad, lo que conlleva a incrementar el consumo de antimicrobianos, como se evidencian estudios en nuestro país. (Vera-Leiva A, 2017; Moreno-Monge, 2013; Salgado, Gilsanz, y Maseda, 2015).

La vigilancia de las bacterias resistentes y de relevancia epidemiológica, permite evaluar la magnitud del problema de la resistencia bacteriana. En algunos hospitales se realiza la vigilancia desde hace más de una década, siendo las bacterias provenientes de muestras hospitalarias las que presentan mayor frecuencia de resistencia a los antimicrobianos. Observándose resistencia a diferentes grupos de antimicrobianos como los betalactámicos, siendo los mecanismos enzimáticos como la producción de betalactamasas los que se presentan con mayor frecuencia en bacterias gram negativas. (Salgado, Gilsanz, y Maseda, 2015; López Dosil, Bischofberge, Sáez y García Picazo, 2017).

Las carbapenemasas son enzimas que hidrolizan los antibióticos betalactámicos. Las bacterias productoras de carbapenemasa son cepas extremadamente resistentes a los antibióticos. Los genes que codifican las carbapenemasas son transferidos a otras especies de bacilos gramnegativos como las enterobacterias, Por estas razones y debido a la rápida diseminación producida a nivel mundial durante los últimos años. (Oteo *et al.*, 2014; López Dosil, Bischofberge, Sáez y García Picazo, 2017).

En el Hospital Nacional Hipólito Unanue desde el año 2014 se presentaron los primeros aislamientos de enterobacterias productoras de carbapenemasas, habiéndose reportado el primer aislamiento de estos microorganismos en el año 2013 en el Hospital A. Loayza (Velásquez, *et al.*, 2013) y por reportes recientes se conoce que en otras instituciones

de salud de nuestro país (Resurrección, *et al.*, 2017) el problema se encuentra en aumento. (Sacsquispe y Bailón, 2018).

La información de incidencia de bacterias multiresistentes, Nos permite estimar mejor la magnitud del problema epidemiológico de resistencia, además establecer comparaciones entre distintos servicios hospitalarios, y también evaluar comparativamente su evolución en el tiempo. En nuestro hospital no se conoce las características demográficas y epidemiológicas de los pacientes que presentaron aislamiento de enterobacterias productoras de carbapenemasas y su tendencia en los últimos cinco años. Por ello estudios base referidos a ubicar, analizar el problema nos permitirán establecer estrategias y nuevas investigaciones para enfrentar este desafío de salud pública.

1.1.1 Formulación del Problema

Problema general

- ¿Cuál es la incidencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas y características demográficas en pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018?

Problemas específicos

- ¿Cuál es la frecuencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas de aislamientos clínicos de pacientes hospitalizados durante el periodo 2014 – 2018?
- ¿Qué características demográficas presentan los pacientes hospitalizados con aislamientos de entero bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018?
- ¿Cuál es la frecuencia de las enterobacterias productoras de carbapenemasas según tipo de muestra en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 - 2018?
- ¿Cuál es el perfil de resistencia a los antimicrobianos de las especies de enterobacterias productoras de carbapenemasas, 2014 – 2018?

- ¿Cuál es fue incidencia anual de enterobacterias productoras de carbapenemasas y su tendencia durante los años 2014 – 2018?

1.2 Antecedentes

Arbizu Medina et al (2016) en su investigación Nueva Delhi metalo- β -lactamasa en especies de Enterobacteriaceae en pacientes hospitalizados, en el Hospital Alemán Nicaragüense en Nicaragua, realizaron un estudio descriptivo para determinar la frecuencia de metalo- β lactamasa tipo Nueva Delhi (NDM), en aislados de enterobacterias de pacientes hospitalizados con diferentes procesos infecciosos. En 249 cepas, identificaron y observaron el perfil de resistencia en Vitek2; siendo la sospecha de resistencia a carbapenémicos la concentración mínima inhibitoria de Imipenem y Meropenem de 2-4 $\mu\text{g/mL}$ y Ertapenem 2 $\mu\text{g/mL}$, la resistencia se determinó mediante el método de disco difusión y el test de sinergia triple disco (carbapenémicos y EDTA). Mediante reacción en cadena de la polimerasa se identificó 18% de cepas resistentes a los carbapenémicos (45/249 cepas). Siendo 43 cepas positivas al test de sinergia con EDTA, 21 portaban el gen NDM. El 66% de NDM se identificó en aislamientos de *Klebsiella pneumoniae*, 14% *Escherichia vulneris*, 5% *Escherichia coli*, 5% *Providencia rettgeri*, 5% *Pantoea agglomerans* y 5% *Kluyvera cryocrescens*. El estudio advierte sobre la circulación metalo- β -lactamasa tipo NDM en cepas con resistencia a los carbapenémicos.

Resurrección et al (2017), en su investigación: *Klebsiella pneumoniae* Nueva Delhi Metalo-betalactamasa en el Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima-Perú, estudio descriptivo de serie de casos en el Hospital Nacional Dos de Mayo en pacientes críticamente enfermos durante el año 2016, describe las características de pacientes con aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo NDM. Siendo cuatro aislamientos considerados como colonización y cinco como infección por *K. pneumoniae* resistente a carbapenémicos (KPRC). Con una mediana de edad de 56 años. La mortalidad global fue

55,5%. Siendo 26 días la mediana entre el tiempo de la admisión y el aislamiento de KPRC. Destacando la emergencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas de tipo Nueva Delhi Metalobetalactamasa en nuestro país. Siendo un importante problema de salud pública mundial. La presencia de este tipo de resistencia delimita o inutiliza opciones terapéuticas para combatir a estas bacterias. Concluyendo que no se había descrito a la fecha, este reporte de *Klebsiella pneumoniae* NDM en Perú, indicando que la presencia de este patrón de resistencia, se presume de su existencia desde hace varios años.

Sacsquispe y Báilon (2018), en su investigación: Identificación de genes de resistencia a carbapenémicos en enterobacterias de hospitales de Perú, 2013-2017. Estudio descriptivo observacional de serie de casos realizado en el Laboratorio de Referencia Nacional (LRN) del Instituto Nacional de Salud (INS) de Lima, Perú. Siendo su objetivo describir la presencia de genes de resistencia a carbapenémicos tipo KPC y metalobetalactamasas en enterobacterias aisladas de 12 hospitales, que fueron remitidos al INS durante los años 2013 al 2017. Identificándose por métodos convencionales, siendo la resistencia antimicrobiana determinada por métodos fenotípicos y bioquímicos. Detectando 83 cepas con carbapenemasas por PCR con presencia de genes de resistencia, el gen *blaKPC* (31,3 %), el gen *blaNDM* (67,5 %) y el gen *blaIMP* (1,2 %). Concluyendo como el primer reporte sobre los genes de carbapenemasas circulantes en hospitales del Perú, por lo que se requiere para un mejor conocimiento de la situación en Perú, fortalecer las estrategias de vigilancia, prevención y control en los hospitales, para evitar la diseminación de bacterias con genes de resistencia a carbapenémicos.

Gonzales (2018), en su publicación: Genes de resistencia a carbapenémicos en enterobacterias: ¿Conocemos realmente la prevalencia de carbapenemasas en Perú? En relación a una investigación sobre genes de resistencia a carbapenémicos en el Perú (Sacsquispe & Bailón, 2018) menciona que los resultados de las cepas analizadas

fenotípicamente, y que mostraron genes de resistencia a carbapenémicos en el análisis molecular por PCR, no siempre se cumple en la práctica diaria. Dado que el test de Hodge puede dar falsos positivos cuando se presentan mecanismos de resistencia combinados de diferentes de betalactamasas, como cefalosporinasas (Amp-C o BLEE) asociado con mutaciones de porinas. Además, solo se detectó por PCR convencional genes *bla KPC*, *NDM*, *VIM* e *IMP*, que son más frecuentes a nivel mundial. Sin embargo, las carbapenemasas tipo D (OXA) son relativamente frecuentes en Europa, y también se han descrito en Sudamérica Enterobacteriaceae productoras de enzimas tipo OXA en Argentina, Brasil y Colombia. Concluyendo, que al no evaluar la presencia de carbapenemasas tipo OXA, hace que se desconozca su prevalencia en nuestro medio.

Oliveros, Uribe, Sierra, Jaimes y Gonzales (2015) en su investigación: Bacteriemia por enterobacterias resistentes a carbapenems. Realizaron un estudio trasversal entre 2010 – 2013 en un hospital de tercer nivel de Medellín, Colombia, con el objetivo de describir las características clínicas, los esquemas terapéuticos y pronóstico de mortalidad intrahospitalaria y efectos adversos en pacientes con bacteriemia por enterobacterias resistentes a carbapenems (CRE). A partir de 64 casos, con promedio de edad 62 ± 14 años, con 66% hombres. 60% procedentes de la unidad de cuidados intensivos. Encontrando *Klebsiella pneumoniae* 64%, *Serratia marcescens* 20% y *Enterobacter* spp 11%. Con mortalidad del 51,6% después de la bacteriemia. Evalúan la mortalidad de pacientes tratados con carbapenems, colistina o tigeciclina, solos o combinación, encontrando menor mortalidad en pacientes tratados con terapias combinadas que incluían carbapenems. Concluyendo que la bacteriemia por CRE afecta pacientes muy enfermos y se acompaña de elevada mortalidad. El manejo antimicrobiano y el uso de carbapenémicos en tratamiento combinado podrían asociarse con menor mortalidad. Se detectó colonización en casi la mitad de los pacientes antes del desarrollo de infección.

Echavarría et al (2017) en su investigación: Colonización por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC en un hospital universitario. Realizaron un estudio de vigilancia en el Hospital Universitario de Buenos Aires para determinar la prevalencia de colonización por *K. pneumoniae* productora de carbapenemasa. Se cultivaron muestras de hisopados rectales de pacientes internados, encontrando colonización por *K. pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC en un 25%, además se identificó la procedencia, edad, internación prolongada, uso de antibióticos previo, internación en unidad de terapia intensiva, hemodiálisis, alimentación enteral, asistencia respiratoria mecánica y evaluación funcional. El uso de sonda nasogástrica para alimentación enteral asociada a la colonización fue la variable con mayor significación estadística. El tiempo de internación fue significativamente mayor en los pacientes colonizados. El uso previo de antibióticos no presentó significación estadística. Se implementaron medidas de contingencia para controlar la diseminación. Finalmente, se implementaron medidas, encontrándose una disminución en la transmisión horizontal del microorganismo.

Justo Quintas *et al* (2018) en su investigación: Infecciones por enterobacterias productoras de carbapenemasas en un servicio de urología, un nuevo desafío. Realizaron un estudio observacional, retrospectivo en el área de hospitalización del servicio de Urología del Hospital Universitario 12 de octubre, entre 2013 y 2016 en Madrid, España, con el objetivo de analizar las infecciones por enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC), también describir características y posibles factores de riesgo asociados con los pacientes de urología. Se revisaron características y variables como el microorganismo, tipo de EPC, tratamiento, procedencia y la mortalidad. A partir de 5.657 ingresos, en 5,9% se aisló EPC. Respecto a la mortalidad, el 8,3% de pacientes que presentaron infección por EPC fallecieron durante el ingreso. Encontrando que el 9,7% de las enterobacterias presentó resistencia a carbapenemasas. Ser portador de catéter urinario (100%) y/o someterse a una

cirugía (58%) son factores de riesgo asociados a estas infecciones en el paciente urológico, observándose que una infección por EPC eleva la morbimortalidad.

Escandón, Vargas, Reyes, Gutiérrez y Villegas (2017) en su revisión sobre la epidemiología de las carbapenemasas en América Latina y el Caribe, mencionan a las infecciones por enterobacterias con producción de carbapenemasas en una progresión temporal y las diversas clases que se han reportado en diferentes países en la región. Sin embargo, su presencia podría estar subestimada dado que la detección es difícil de realizar en muchos laboratorios de microbiología clínica, sea por los distintos fenotipos de resistencia al carbapenem, que sería justificado la confirmación molecular. Asimismo, se asocian a mayores tasas de morbilidad, mortalidad, estancias prolongadas, aumento de costos en la atención médica y un grave problema entre las enfermedades infecciosas. Siendo pocos estudios los que evalúan el impacto clínico de la resistencia al carbapenem, como predictores de mortalidad independiente y costos elevados asociados. Recopilando estudios que describen la presencia de carbapenemasas en resúmenes, manuscritos en bases de datos PubMed, Scielo, LILACS y otros solo considerados en ausencia de informes formales de revistas. Resaltando, la importancia de establecer medidas para prevenir la propagación de productores de carbapenemasas en América Latina.

1.3 Objetivos

- Objetivo General

- Determinar la incidencia de Enterobacterias productoras de carbapenemasas y características demográficas en pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 - 2018.

- *Objetivos Específicos*

- Identificar las enterobacterias productoras de carbapenemasas de aislamientos clínicos de pacientes hospitalizados.
- Determinar frecuencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas en pacientes hospitalizados durante el periodo de estudio 2014 – 2018.
- Describir las características demográficas de los pacientes hospitalizados con aislamientos de entero bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.
- Determinar la frecuencia de las enterobacterias productoras de carbapenemasas según tipo de muestra, Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 - 2018.
- Identificar el perfil de resistencia a los antimicrobianos de la enterobacterias productoras de carbapenemasas, 2014 – 2018.
- Describir la incidencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas en el tiempo y establecer su tendencia, 2014 – 2018.

1.4 Justificación

Se plantea este proyecto de investigación por existir en nuestra institución y en el país escasos estudios que identifiquen enterobacterias productoras de carbapenemasas, así como las características demográficas y epidemiológicas de los pacientes hospitalizados con estos aislamientos, generando así una línea de base para investigaciones que permitan dar soluciones en este problema de salud pública. La emergencia de especies de Enterobacterias resistentes a carbapenémicos es un problema mundial, nacional y local porque constituye una amenaza para la salud pública con serias implicancias clínicas y terapéuticas. Es necesaria la investigación porque es importante conocer y evaluar los perfiles microbiológicos, epidemiológicos y de resistencia en nuestro ámbito, para el desarrollo de

guías y protocolos de manejo según la realidad local. La información sobre este problema en nuestro país es limitada.

El proyecto aporta a generar nuevo conocimiento sobre el tema en el ámbito local, regional, y nacional, donde la obtención de información permite conocer mejor la dinámica de las infecciones por enterobacterias productoras de carbapenemasas en una institución hospitalaria de tercer nivel, que sea de utilidad para proponer políticas y medidas de control más eficientes. En el ámbito local la investigación podrá ser utilizada como una herramienta en pacientes con este tipo de patologías. Además, sirve como estudio base de nuevos proyectos de investigación.

Esta investigación nos permitirá ampliar el conocimiento de la incidencia de las enterobacterias productoras de carbapenemasas en el ámbito hospitalario por periodos de tiempo en una serie de 5 años y permitir identificar las tendencias en el tiempo. Aportando conocimientos para el desarrollo social y científico del país; y descripción de los perfiles de antimicrobianos útiles para el tratamiento en este grupo de pacientes.

1.5 Hipótesis

No se plantea hipótesis por ser un estudio descriptivo.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

Las carbapenemasas son enzimas capaces de hidrolizar, casi todos los antibióticos betalactámicos, incluidos los carbapenémicos. La presencia de otros mecanismos de resistencia presentes en las bacterias productoras de carbapenemasa es frecuente, originando cepas extremadamente resistentes a los antimicrobianos. Los genes que codifican las carbapenemasas con mayor relevancia clínica y epidemiológica tienen en su mayoría localización plasmídica, y se transfieren y expresan con facilidad en diversos géneros y especies de bacilos gramnegativos, y con más frecuencia se ha observado en especies de enterobacterias. Por la rápida diseminación producida a nivel mundial en los últimos años, se viene convirtiendo en un problema de salud pública con gran trascendencia y que tiene especial repercusión a nivel hospitalario. (Rojo, Vázquez, Reyes, Puente y Cervero, 2018)

2.1.1 *Enterobacterias.*

Las Enterobacterias están conformadas por una variedad de bacterias gram negativas de gran importancia clínica, Esta familia está clasificado dentro del dominio Bacteria, filo Proteobacteria, clase Gammaproteobacteria y orden Enterobacterales, que comprende más de 60 géneros y cientos de especies. Hasta 20 especies distintas han sido aisladas en muestras clínicas, diferenciándose entre patógenos primarios y colonizantes de la microflora del tracto gastrointestinal humano. Son bacterias anaerobias facultativas, con forma de bacilos o coco bacilos gram negativos y cuyo tamaño oscila entre 0,3-1 μm por 0,6-6 μm . No forman esporas y pueden ser móviles por flagelos peritricos o inmóviles. (Versalovic J, 2011):

Como características bioquímicas son catalasa positiva, oxidasa negativa, reducen los nitratos a nitritos y son capaces de fermentar la glucosa y otros carbohidratos que han servido permiten la identificación bioquímica a nivel de especie. Su gran capacidad

metabólica les permite utilizar numerosos sustratos como fuentes de energía, y crecen bien en la mayoría de medios de cultivo. Las características estructurales de estas bacterias presentan significativos factores de virulencia como: fimbrias, cápsula y el lipopolisacárido de la pared celular. La mayoría de especies pueden producir fimbrias o pili, que permiten la unión a otras bacterias y a las células del huésped. También algunas especies producen cápsula de naturaleza polisacárida, que puede ser rígida y organizada o laxa como el biofilm, y puede evitar la activación del complemento y la fagocitosis. La pared celular de las enterobacterias, al igual que en otras bacterias gram negativas, tiene una estructura con una bicapa lipídica. La membrana interna es bicapa de fosfolípidos y proteínas que regulan el ingreso de nutrientes, metabolitos y macromoléculas. El periplasma tiene una delgada capa de peptidoglucano dentro del espacio periplásmico con gran concentración de proteínas. La membrana externa, presenta también bicapa de fosfolípidos con LPS, lipoproteínas fijadas al peptidoglucano, proteínas multiméricas que forman porinas, que facilitan el ingreso de numerosas sustancias, como los antibióticos betalactámicos, y proteínas de la membrana externa. El LPS presenta un oligosacárido con capacidad antigénica, el antígeno O y una parte lipídica que forma un importante factor de virulencia, el lípido A o endotoxina. (Puerta-García y Mateos-Rodríguez, 2010; Cárdenas-Perea M. E., 2014)

La presencia de elementos genéticos móviles es frecuente entre las enterobacterias, como: plásmidos y transposones que codifican nuevos antígenos, factores de virulencia y resistencia a antibióticos. Aunque la transferencia de genes cromosómicos es menos frecuente entre las enterobacterias, la transferencia de elementos genéticos móviles es un fenómeno altamente frecuente tanto entre bacterias de la misma especie como entre géneros diferentes. (Versalovic J, 2011).

Epidemiología. La familia Enterobacteriaceae está ampliamente distribuida en el medio ambiente pudiéndose encontrar en suelo, plantas, medio acuático y tubo digestivo de animales y seres humanos. Las enterobacterias que colonizan al hombre forman parte en su mayoría de la flora gastrointestinal. Las enterobacterias pueden colonizar de forma transitoria la mucosa periuretral pudiendo ascender a través de la uretra a la vejiga, y en algunos casos llegar a través del uréter hasta la pelvis renal. Son por tanto los agentes etiológicos más frecuentes de infección del tracto urinario a nivel comunitario en adultos y de infección urinaria asociada a catéter vesical. (Eckburg, *et al.*, 2005).

Por otro lado, las enterobacterias ocasionan patología en humanos cuando aparecen en el huésped factores que predisponen a la infección, comportándose como patógenos oportunistas. Entre los múltiples factores predisponentes a la infección por enterobacterias comensales podemos distinguir dos tipos:

Factores Predisponentes Exógenos. Facilitan la penetración microbiana por rotura de las barreras mucocutáneas, como heridas quirúrgicas o traumáticas, quemaduras, sondajes, catéteres y drenajes. Presencia de material protésico, patologías locales (litiasis, isquemia local) y procedimientos diagnósticos invasivos. (Padilla Serrano, Serrano Castañeda, Carranza González y García Bonillo, 2018)

Factores Predisponentes Endógenos. Por alteraciones directas o indirectas en el sistema inmune, como las enfermedades crónicas o sistémicas (diabetes, cirrosis, insuficiencia renal, leucemia, enfermedades auto inmunes), inmunosupresión farmacológica en trasplantados y pacientes con neoplasias y en los grupos de edades extremas por falta de madurez en neonatos o por disfunción inmunitaria en adultos mayores. (Padilla *et al.*, 2018)

El conjunto de varios factores predisponentes hace de las enterobacterias, uno de los principales agentes etiológicos de las infecciones asociadas a la atención en salud nosocomiales. En el Perú los estudios de prevalencia de las infecciones nosocomiales son

escasos, algunos reportes del Instituto Nacional de Salud muestran que las enterobacterias son los microorganismos que se aíslan con más frecuencia tanto en las infecciones nosocomiales, como en las infecciones de origen comunitario atendidas en los hospitales públicos. (Sacsquispe y Bailón, 2018).

Evolución de la Resistencia a los Betalactámicos. Desde el ingreso de los antibióticos de amplio espectro en la década del 60' para el tratamiento de bacterias gram negativas, las enterobacterias han adquirido diversos mecanismos para evadir la acción de los antimicrobianos, como la producción de enzimas betalactamasas de espectro ampliado (BLEA) capaces de hidrolizar penicilinas y cefalosporinas. En los años 70' ingresaron para uso terapéutico dos cefalosporinas estables a la acción de las betalactamasas: cefamandol y cefuroxima, seguidos de la cefotaxima y ceftazidima en los años 80'. No obstante, emergieron en enterobacterias las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) con actividad hidrolítica frente a estos nuevos fármacos. A través de los años estas bacterias productoras de BLEE se han diseminado a nivel mundial y con frecuencia se asocian con resistencia a otros antibióticos como fluoroquinolonas y aminoglucósidos. En el año 1985, se introdujeron a la práctica clínica los antibióticos betalactámicos carbapenémicos. Los carbapenémicos se caracterizan por su amplio espectro y una gran estabilidad frente a las betalactamasas, incluidas las BLEE, siendo indicadas para el tratamiento de infecciones por bacterias productoras de BLEE. (Moellering, 1978; O'Callaghan CH SR, 1976; Garzone P, 1983; Knothe, Shah, Krcmery, Antal y Mitsuhashi, 1983).

Las primeras enzimas carbapenemasas identificadas en enterobacterias se reportaron en Reino Unido en aislamientos de *Serratia marcescens* el año 1982, del tipo serin carbapenemasa SME-1, y con localización cromosómica (Yang YJ, 1990). Sin embargo, las primeras carbapenemasas transferibles descritas en gram negativos fueron las metalobetalactamasas del tipo IMP en aislamientos clínicos de *P. aeruginosa* en Japón en

1991 (Watanabe M, 1991) y posteriormente en España en *S. marcescens* (Ito, *et al*, 1995). El año 2001 se describió la primera enterobacteria productora de carbapenemasa del tipo KPC-1 en Carolina del Norte (Yigit H, 2001), diseminándose por Estados Unidos, y otros países como Costa Rica, Colombia, Israel y Grecia (Nordmann P, 2009), El año 2003 se produjo una diseminación de enterobacterias productoras de carbapenemasa tipo VIM en Grecia (Vatopoulos, 2008) y algunos brotes en hospitales de Francia y España (Kassis-Chikhani N, 2006; Tato M, 2007). También se han descrito enterobacterias productoras de KPC-2 en Paraguay (Melgarejo T, 2017), y carbapenemasas KPC en Venezuela (Gómez-Gamboa, *et al*, 2014)

Desde el año 2008 se han descrito ingreso de enterobacterias productoras de carbapenemasa NDM-1 desde la India a Reino Unido, Austria, Bélgica, Francia, Alemania, Holanda, Noruega y Suecia (Grundmann H, 2010; Yong D, 2009). Observándose también casos en latino américa en Costa Rica, (Inciensa, 2014), Paraguay (Ocampos Ugarte y Takahasi Alvarez, 2015) y el Perú (Resurrección Delgado, *et al.*, 2017).

En el 2006 se describieron los primeros casos de enterobacterias productoras de carbapenemasa OXA-48 en un brote en Turquía (Carrer A, 2008) con posterior diseminación a países de la cuenca mediterránea, África y Europa (Nordmann, Naas, & Poirel, 2011). Es importante destacar que frecuentemente las enterobacterias productoras de carbapenemasas son portadoras de otros mecanismos de resistencia, hacia antibióticos betalactámicos, y otros grupos, favoreciendo a la emergencia de multirresistencia, resistencia extrema o incluso pan resistencia antibiótica. (Oteo, *et al.*, 2014)

Ante este panorama del incremento continuo de la resistencia, sobre todo en antibióticos de última línea de uso terapéutico, el 2012 se inició el proyecto EuSCAPE (*European Survey on carbapenemase-producing Enterobacteriaceae*) para obtener información sobre la epidemiología, incidencia y diseminación de enterobacterias

productoras de carbapenemasa en 37 países de Europa e Israel. En el 2013 en 3 países (Islandia, Montenegro y Macedonia) no se notificaron de casos de enterobacterias productoras de carbapenemasa, Solo 21 países tuvieron un caso, o brotes hospitalarios esporádicos; y en 11 países se informó diseminación regional, presentando una situación endémica Grecia, Italia y Malta donde la mayoría de hospitales reportó pacientes con aislamiento de enterobacterias productoras de carbapenemasa. En España, se han reportado brotes hospitalarios y diseminación regional en hospitales desde el 2010. (Oteo, *et al.*, 2014; Domínguez Calvo, 2016)

2.1.2 Antibióticos Carbapenémicos

El año 1976 se publica el descubrimiento del antimicrobiano tienamicina, obtenida a partir de un hongo: *Streptomyces cattleya*, y por primera vez se documenta el uso clínico de los carbapenémicos. Pese a su inestabilidad química, la tienamicina demostró tener el espectro antibacteriano más amplio dentro del grupo de los betalactámicos, por lo que se desarrolló un derivado estable, la N-formimidoil tienamicina o imipenem, posteriormente se sintetizaron otros antimicrobianos de esta clase como meropenem, doripenem, entre otros. (Moreno-Monge, 2013)

Estructura Química. El anillo carbapenémico es un azobicyclo conformado por un anillo betalactámico y otro pirrolidínico con un enlace insaturado en posición 2 y 3. Todos tienen en posición 6 un grupo hidroxietilo con configuración trans que preserva al anillo β -lactámico de muchas serino-betalactamasas, y en la posición 3 un radical carboxilo, importante para que el anillo pirrolidínico active al anillo β -lactámico. (Falco Restrepo, 2015)

Mecanismo de Acción. Los carbapenémicos inhiben la síntesis de la pared bacteriana durante la transpeptidación uniéndose a residuos de serina del centro activo de enzimas transpeptidasas, ubicadas en la membrana, también denominadas como PBPs

(Penicillin Binding Proteins, proteínas que fijan penicilinas). Realizan su mecanismo de acción atravesando la pared celular para unirse a las PBPs. En las bacterias gram negativas por su estructura pueden alcanzar a las PBPs a través de las porinas de la membrana externa. Las transpeptidasas actúan en la última fase de la síntesis de la pared bacteriana, en el entrecruzamiento de diferentes cadenas de peptidoglucano mediante enlaces entre las cadenas peptídicas laterales. Este paso empieza con la formación de tetrapéptidos a partir de pentapéptidos con la pérdida de uno de los aminoácidos terminales que están fijados al ácido N-acetilmurámico. El anillo betalactámico presenta una similitud estructural con la región del pentapéptido a la que se unen estas enzimas, por lo que es capaz de unirse a ellas de forma covalente y bloquear su actividad. (Falco Restrepo, 2015)

Mecanismos de Resistencia a Carbapenémicos en Enterobacterias. La resistencia a los antibióticos carbapenémicos en enterobacterias a diferencia de otras bacterias gram negativas se produce frecuentemente por dos mecanismos: Primero, por disminución en la expresión o funcionalidad de las porinas de membrana externa, que dificulta la penetración del antibiótico en el espacio periplásmico, junto con la sobreexpresión de betalactamasas con baja afinidad por los carbapenémicos. El otro mecanismo más frecuente es la adquisición de genes que codifican enzimas capaces de degradar los carbapenémicos. (Rodríguez, 2016)

Las carbapenemasas hidrolizan el anillo betalactámico, inactivando las propiedades antibacterianas de los carbapenémicos. En enterobacterias se han identificado carbapenemasas pertenecientes a las clases moleculares de la clasificación de Ambler: Clase A, B y D. Las enzimas carbapenemasas de clase A y D tienen un mecanismo hidrolítico tipo serina y son serinoproteasas, y las enzimas de clase B requieren 1 ó 2 iones de zinc para su actividad catalítica y son metaloenzimas. Además, se ha reportado una betalactamasa de la clase C que hidroliza imipenem (CMY-10). Los carbapenémicos, también hidrolizan otros

betalactámicos y dependiendo del tipo de carbapenemasa se observan variaciones en su espectro de actividad hidrolítica, así como en los inhibidores. Tienen distribución global, observándose que algunas carbapenemasas se asocian con regiones o países específicos. Sin embargo, por los viajes internacionales y exposición a la atención médica, esta asociación puede variar entre un mecanismo de resistencia y una región o país determinado, siendo prioritario la vigilancia local y nacional. (Bonomo, *et al.*, 2018; Sacsquispe & Bailón, 2018).

Carbapenemasas de Clase A. Las carbapenemasas de clase A, hidrolizan betalactámicos que incluyen las penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos y aztreonam. Las de mayor trascendencia clínica e importancia epidemiológica son las de tipo KPC, denominadas así por ser aisladas por primera vez en *K. pneumoniae: Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa. (Nordmann, Naas y Poirel, 2011) Fenotípicamente, las enzimas KPC hidrolizan betalactámicos como las penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos. Como excepción tendrían una menor tasa de hidrólisis de las cefamicinas aunque los valores de CMI que se obtienen suelen estar por encima del punto de corte de sensibilidad. Se inhiben parcialmente por el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam, y se inhibe de forma eficiente por el ácido borónico por lo que se utiliza para su detección fenotípica. Sin embargo, el ácido borónico es además un eficiente inhibidor de las betalactamasas de tipo

AmpC. Se describe KPC por primera vez en la costa este de Estados Unidos en 1996 y posteriormente se disemina por todo el país y otros países como Colombia y Puerto Rico. (Hawser, Bouchillon, Hoban y Hackel, 2009) También se ha reportado aislamientos en otros países de Europa, como Grecia e Italia y en China. Son de naturaleza plasmídica asociadas al transposón Tn4401. También se han encontrado asociadas a las cepas de secuencia tipo ST258 de *K. pneumoniae*. Las enzimas KPC se han descrito en especies de

Enterobacteriaceae, *P. aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*. (Glasner C, 2013; Ruiz-Garbajosa *et al.*, 2013)

Carbapenemasas de Clase B. También conocidas como metalo betalactamasas (MBL) hidrolizan todos los antibióticos betalactámicos con excepción del aztreonam y no son inhibidas por ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam, se han identificado en Enterobacterales y *Pseudomonas aeruginosa* que su capacidad de hidrólisis es dependiente del catión Zn^{2+} en el sitio activo, por lo cual son inhibidas por agentes quelantes de cationes divalentes como el EDTA, el ácido 2-mercaptopropiónico, o el ácido dipicolínico. (Moreno-Monge, 2013)

Entre las metalo betalactamasas plasmídicas más frecuentes las del tipo Nueva Delhi metalobetalactamasa (NDM), Verona Integrón que codifica metalobetalactamasa (VIM) y las Imipenemasa metalobetalactamasa (IMP) son las más identificadas a nivel mundial en enterobacterias. Las de tipo KHM-1 son infrecuentes y se han descrito en Japón en *C. freundii* en 1997. Los genes *blaIMP* forman parte de integrones de clase 1 que contienen casetes de genes que codifican para varios mecanismos de resistencia no relacionados y que se expresan a partir de un mismo promotor. Los integrones de clase 1 no tienen capacidad de movilizarse por sí mismos, pero forman parte de transposones que permiten su diseminación. Las carbapenemasas de tipo VIM también forman parte de un casete de genes dentro de integrones de clase 1 y se conocen 33 variantes. La variante de tipo VIM-2 es la más frecuente y con una distribución endémica en el sur de Europa y el sudeste asiático. Las carbapenemasas NDM fueron descritas el año 2008 en Suecia en un paciente procedente de Nueva Delhi, de rápida diseminación y perfil de multirresistencia o pan resistencia. La mayoría de los pacientes infectados o colonizados por NDM-1 habían viajado a la India, Pakistán o Bangladesh siendo estos países considerados reservorio de genes *blaNDM-1*. (Walsh, Toleman, Poirel y Nordmann, 2005)

Los genes de *bla*NDM-1 se han descrito en una gran variedad de bacterias gram negativas, siendo la mayoría especies de enterobacterias, con plásmidos de diferentes tipos. La mayoría de las cepas productoras de NDM-1 expresan otros genes de resistencia no relacionados, como carbapenemasas (OXA-48, VIM), cefalosporinas AmpC, BLEE, resistencias a aminoglucósidos, macrólidos, rifampicina y sulfametoxazol; siendo estas cepas productoras de NDM-1 sólo sensibles a tigeciclina, colistina o fosfomicina. Aunque la mayoría de las cepas productoras de NDM-1 son de origen nosocomial, con *K. pneumoniae* como más frecuente, también se han descrito en *E. coli* de origen comunitario. En aguas residuales en Nueva Delhi se encontraron cepas productoras de NDM-1 en muchas especies de bacilos gram negativos, incluyendo *Vibrio cholerae*; lo que muestra que, en la India, existe una gran diseminación medio ambiental. (Walsh, Weeks, Livermore y Toleman, 2011)

Carbapenemasas de Clase D. También denominadas oxacilinasas por su capacidad de hidrolizar oxacilina, comprenden más de 230 enzimas, y sólo algunas poseen actividad carbapenemasa, pertenecen al grupo 2df de la clasificación de Bush-Jacoby. Con la excepción de la OXA-163, las betalactamasas de clase D con actividad carbapenemasa no hidrolizan cefalosporinas de espectro extendido y en general tienen una actividad carbapenemasa débil comparadas con las metalo betalactamasas, no son inhibidas por ácido clavulánico, ácido borónico, ni agentes quelantes como el EDTA, aunque sí por el cloruro de sodio (NaCl) y, a diferencia de las carbapenemasas de clase A y betalactamasas de clase C, presentan una elevada resistencia a temocilina. (Hartl, 2013)

La mayoría de enzimas de clase D con actividad carbapenemasa se han descrito en el género *Acinetobacter* (OXA-23, OXA-24/40-, y OXA-58), con excepción de la OXA-48 y derivados (OXA-181 y OXA-232) descrita exclusivamente en especies de enterobacterias. La primera enzima OXA-48 se identificó en una cepa de *K. pneumoniae* el año 2001 en

Turquía, reportándose brotes nosocomiales en Turquía, Francia y Bélgica, y en todo el norte de África. En el 2011 se describieron los primeros casos de enterobacterias en la India con una variante de OXA-48 con las mismas propiedades hidrolíticas y una mutación puntual, a esta variante se le conoce como OXA-181. (Nordmann, Naas, & Poirel, 2011), (Castanheira, y otros, 2011). Ese mismo año, se reportó por primera vez en Argentina OXA-163, una variante de OXA-48, con capacidad de hidrolizar débilmente carbapenemes y ser más eficientes frente a las cefalosporinas. (Bonomo, *et al.*, 2018; Amalfa, *et al.*, 2015).

2.1.3 Métodos de Detección de Carbapenemasas

Las enterobacterias resistentes a los carbapenémicos, tienen que ser detectadas adecuadamente para identificar el tipo de carbapenemasas y orientar el tratamiento empírico. Existen varias metodologías, como las técnicas convencionales del antibiograma basadas en el fenotipo donde se observa el crecimiento microbiano frente a diferentes antibióticos y se valora los halos de inhibición según un punto de corte como sensible, intermedio y resistente. Otras técnicas incluyen la microdilución y macrodilución en caldo, dilución en agar, tiras con un gradiente de antibiótico. Para evaluar la fiabilidad, los resultados de un método de sensibilidad se clasifican, con respecto al antibiograma con un método de referencia o gold standard, como agreements (concordancia), minor errors (resultado erróneo de una sensibilidad intermedia), major errors (falsa resistencia) y very major errors (falsa sensibilidad). Se destacan las técnicas moleculares, microarrays, métodos comerciales basados en microdilución, inmuno-cromatográficas, métodos colorimétricos, espectrometría de masas, quimioluminiscencia, bioluminiscencia, y métodos de lisis bacteriana. (March-Rosselló, 2017)

En nuestro país, los criterios de sensibilidad antimicrobiana aceptados por el Instituto Nacional de Salud, son semejantes a las recomendaciones del Instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI) de los EE.UU. Los métodos automatizados para

evaluar la sensibilidad de Enterobacterias a los antimicrobianos utilizan puntos de corte de concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) para categorizar un microorganismo como sensible, intermedio o resistente. Así por ejemplo según las recomendaciones del CLSI, las enterobacterias se consideran “sensible” cuando la CIM para ertapenem es menor o igual a 0,5 µg/mL, “intermedio” cuando la CIM es 1 µg/mL y “resistente” cuando la CIM es mayor o igual a 2 µg/mL. EUCAST, desde el 2013, en enterobacterias consideran “sensible” cuando la CIM para ertapenem es menor o igual a 0,5 mg/L, “intermedio” sí la CMI es de 1 µg/mL y “resistente” cuando la CIM es mayor a 1 µg/mL. (Rapoport, 2018)

Método de Tamizaje del CDC. El Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos diseñaron una prueba de detección de carbapenemasa en Enterobacterales basada en el enriquecimiento en caldo y subcultivo en placas de agar. Siendo el protocolo: i) inoculación de hisopados rectales en caldo triptasa de soya (TSB) donde se ha inmerso previamente un disco de meropenem de 10 µg, (ii) incubación durante toda la noche (iii) homogenizar y subcultivar 100 µl del caldo en placas de agar MacConkey, (iv) incubación durante la noche, (v) selección de fermentadores de lactosa para identificación y pruebas de susceptibilidad. La ventaja del método es su fácil implementación y la disponibilidad de materiales en los laboratorios clínicos. El método ha demostrado en estudios tasas de sensibilidad de 89,1% a 98,8% y especificidad de 80,2% a 86,4%. (Aguirre y Martínez, 2017)

Métodos Cromogénicos. Son útiles para muestras o subcultivos con sospecha de producción de carbapenemasas. Se utiliza un medio sólido con agar cromogénico suplementado con antimicrobianos que inhiben la microbiota acompañante, permitiendo recuperar microorganismos resistentes a carbapenémicos directamente de cultivos o hisopados rectales. Además, contiene cromógenos que facilitan la identificación presuntiva del microorganismo. Requiere de incubación de 24 a 48 horas. Múltiples estudios que

evaluaron diferentes medios cromogénicos con bacterias previamente cultivadas, no con inoculación directa de muestras de pacientes han reportado una especificidad aceptable, pero sensibilidades que van 53 a 100%. Las cepas con un perfil hidrolítico bajo como OXA-48 son difíciles de detectar, pero los medios más recientes mejoran su detección. (Josa, Bustos, Torres y Esparza, 2018; Aguirre y Martínez, 2017).

Test de Hodge Modificado. Permite la detección de productores de carbapenemasas, pero su especificidad está limitada por la falsa identificación de BLEE tipo CTX-M o hiperproductores de AmpC. Asimismo, su sensibilidad se limita porque detectan débilmente los productores NDM, siendo útil como método único para la detección de productores de KPC y de OXA-48. (Cercenado, 2015)

Inhibición por EDTA. El ácido etilen diamino tetraacético (EDTA) priva a las metalobetalactamasas de sus cationes divalentes de Zinc, los que son esenciales para la actividad hidrolítica frente a los betalactámicos. En la detección fenotípica de Metalo- β -lactamasa (MBLs) se utiliza el disco de EDTA por el método de triple disco. Consiste en colocar, en una placa de agar Mueller-Hinton inoculado con la cepa problema, un disco que contiene un agente quelante (EDTA, SMA, ácido dipicolínico o ácido 2-mercaptopropiónico) frente a un disco de imipenem (10 μ g) y otro de meropenem (10 μ g). Esta prueba es positiva si se observa un aumento del halo de inhibición o la presencia de una zona de sinergia entre el imipenem y/o el meropenem y el agente quelante. (Nicola, Nievas y Smayevsky, 2012), (Márquez, Rojas y Camacho, 2017)

Inhibición por Ácido Fenil Borónico. Utilizado para la detección de carbapenemasas de la clase A, como KPC. El Test de inhibición de Ácido fenil borónico (APB) es específico para la detección de KPC en *K. pneumoniae* cuando se realiza con imipenem o meropenem pero no con ertapenem. Presenta baja sensibilidad y especificidad, y tiene algunas limitaciones en las enterobacterias productoras de AmpC (*Enterobacter spp*,

Citrobacter spp, *M. morgani*, *Providencia spp*, *Serratia spp*.) porque el ácido borónico también les afecta. La inhibición de la actividad de las cefalosporinas se consigue mediante el uso de cloxacilina. Combinando el ácido borónico y la cloxacilina se consigue diferenciar las cepas productoras de carbapenemasas clase A de las cepas productoras de AmpC. Los estudios que evalúan su utilidad han demostrado excelentes sensibilidades (100%) y especificidades del 91,0%. (Reyes *et al.*, 2017; Cercenado, 2015; Aguirre y Martínez, 2017).

E-Test MBL. Es un método que permite la detección de productores de metalo- β -lactamasas con base en la inhibición de la actividad MBL por EDTA y es útil para la detección de productores MBL con alta resistencia a imipenem. Las tiras de MBL de Etest (AB BioMerieux) contienen concentraciones crecientes de imipenem (IP) en un extremo e imipenem con EDTA (IPI) en el otro. El EDTA quela los iones de zinc requeridos por las metalobetalactamasas para catalizar la hidrólisis de imipenem y meropenem, inhibiendo así la actividad de MBL. La reducción en la CIM del imipenem en presencia de EDTA de 3 diluciones dobles o la presencia de una elipse deformada en el lado IPI o MPI de la tira se interpretan como positivas de la actividad de MBL. Las tiras de difusión de gradiente que contienen meropenem son más eficientes para la detección de productores de MBL y han mostrado alta sensibilidad (82 a 94%) y especificidad (97 a 100%). (Bora, Sanjana, Kumar Jha, Narayan Mahaseth, y Pokharel, 2014; Aguirre y Martínez, 2017).

Método de Inactivación de los Carbapenémicos. Es un método fenotípico, llamado método de inactivación del Carbapenem (MIC), fue desarrollado para detectar la actividad carbapenemasa en Gram-negativos en ocho horas. Presenta una alta concordancia con la prueba de PCR para la detección de genes codificantes de carbapenemasas. Con un asa de 10 μ L se toma la cepa previamente cultivado en agar Mueller-Hinton e incubado durante 24 horas a 35°C y se re suspende en 400 μ L agua destilada estéril; se agrega un disco de Meropenem 10 μ g dentro de la suspensión y se incuba 2 horas a 35°C. Luego se

retira el disco con pinza estéril y se coloca sobre una placa de agar Mueller-Hinton previamente sembrada de forma masiva con *E. coli* ATCC 25922 con una turbidez del 0,5 Mc Farland. Se puede utilizar controles positivo y negativo. Se incuba a 35°C por 6 horas. La interpretación se basa en la presencia (negativo) o ausencia (positivo) del halo de inhibición. Frente a cepas productoras de enzimas KPC, NDM, VIM, IMP o OXA-48, se encontró sensibilidad del 85,7% a 100% y especificidad del 95,7% a 100%. Sin embargo, la prueba no distingue los diferentes tipos de carbapenemasas. (Reyes Chacón, *et al.*, 2017; Van der Zwaluw, *et al.*, 2015; Aguirre y Martínez, 2017).

Método Modificado de Inactivación de Carbapenemes (mCIM). Fue propuesto por el CLSI el año 2017. Esta metodología presenta una sensibilidad y especificidad mayor de 99% para la detección de carbapenemasas KPC, NDM, VIM, IMP, SPM, SME y de tipo OXA en enterobacterias. Se ha demostrado que el mCIM es altamente sensible y específico para la detección de KPC y de MBL en enterobacterias distintas del grupo *Proteeae*. La enzima OXA-163 no es detectada eficientemente por esta metodología. El mCIM es fácil de realizar como de interpretar para Enterobacteriaceae, con resultados en menos de 24 horas y excelente reproducibilidad entre laboratorios. El mCIM produce altas sensibilidad (91% a 94%) y especificidad (99% a 100%). (Pierce, *et al.*, 2017; Rapoport, 2018).

Método Modificado de Inactivación de Carbapenemes con EDTA (eCIM). Tiene como finalidad diferenciar si la carbapenemasa producida es de la familia de las metalo- β -lactamasas (MBL). El método eCIM debe ser realizado conjuntamente al método mCIM, siendo validado para enterobacterias y *Pseudomonas*. Para cada aislamiento en un tubo con 2ml de caldo Tripticasa soya se agrega 20 μ l de una solución de EDTA 0.5M, luego agregar 1 μ l de la cepa y un disco de meropenem, incubar 37°C por 2 horas. Se retira el disco de meropenem del tubo mCIM y del eCIM y se coloca en una misma placa hisopada

con *E. coli* ATCC® 25922. Se interpreta el eCIM sólo si el mCIM es positivo. (mCIM positivo: zona de inhibición entre 6-15mm o zona de inhibición entre 16-18mm con presencia de colonias intra halo). MBL es positivo si se incrementa la zona de inhibición en mayor o igual a 5mm del eCIM frente al mCIM. Si la cepa produce una MBL, la actividad de la carbapenemasa se inhibirá por el EDTA, de esta manera el meropenem del disco no será tan eficientemente hidrolizado como en el tubo sin EDTA. El resultado es la inhibición del crecimiento del aislamiento indicador (*E. coli*) y un incremento de la zona de inhibición para el eCIM comparado a la zona de inhibición de mCIM. (Rapoport, 2018)

Métodos Inmuno Cromatográficos. Permiten la detección rápida de carbapenemasas a partir de colonias aisladas en cultivos sólidos. Estas pruebas reconocen las enzimas que son capaces de hidrolizar carbapenemas, siendo sus presentaciones diversas y se basan en tecnología de membrana con nanopartículas de oro coloidal. Se sensibiliza una membrana de nitrocelulosa con un anticuerpo monoclonal frente a un epítipo de la enzima carbapenemasa de interés, después otro anticuerpo monoclonal frente a un segundo epítipo de carbapenemasa se conjuga con las partículas de oro coloidal. Son realizadas según las indicaciones del fabricante y las lecturas e interpretación son rápidas, en un tiempo menor a quince minutos; resultando fácil, rápida y segura. Los datos publicados que evalúan estas pruebas, muestran buenos resultados, con sensibilidades y especificidades del 100% para detectar diferentes enzimas MBL, KPC y tipo OXA. En el futuro, se estima que pruebas similares tengan diseños fáciles de usar, precisos, rápidos y rentables para los laboratorios de microbiología clínica para identificar la presencia de carbapenemasas específicas similares a lo que ocurre con los métodos basados en pruebas moleculares. (Mediavilla, *et al.*, 2017; Aguirre y Martínez, 2017; Tamma y Simner, 2018).

Espectrometría de Masas. La espectrometría de masas (MALDI-TOF MS) se utiliza para la identificación de bacterias y hongos. Su aplicación en la detección de la

actividad de carbapenemasa se reporta desde el 2011. Esta técnica se basa en la detección del espectro de productos de degradación de un carbapenem posterior a una hidrólisis enzimática bacteriana. Se han descrito varios protocolos, siendo necesario una buena estandarización. Diferentes estudios han demostrado sensibilidad entre 77% a 100%, y especificidades de 94% a 100%. Se reportaron resultados falsos negativos en los productores de OXA-48, pero la adición de NH_4HCO_3 al búfer de reacción mejoro su detección. Se han encontrado resultados óptimos en la detección de la actividad de carbapenemasas (KPC-2 y SPM- 1) desde frascos de hemocultivo. Puede ser rápido y rentable en la detección de carbapenemasas, como desventaja, no orienta el tipo específico de carbapenemasa, pero la inclusión de inhibidores del carbapenem (PBA y DPA) y de temocilina detecta el tipo de carbapenemasa. Se están evaluando otros sistemas como la cromatografía líquida-MS, espectrometría de masas tándem de cromatografía líquida ultra-rendimiento, para su uso en la detección de carbapenemasas. A pesar de su rendimiento, su utilidad se limita al entorno de investigación por todo el equipamiento necesario para su elaboración. (Aguirre y Martínez, 2017).

Métodos Basados en Técnicas de Biología Molecular. El diagnóstico confirmatorio de producción de carbapenemasas se realiza mediante el uso de técnicas moleculares, con análisis genotípico. También existen diferentes pruebas diagnósticas con buena sensibilidad y especificidad que permiten identificar fenotípicamente el patrón de resistencia y sospechar la producción de carbapenemasas. Las técnicas moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), constituyen el estándar de método diagnóstico, permitiendo obtener resultados en 4 a 6 horas con excelente rendimiento. Su principal limitación es el costo y la disponibilidad de recursos en las instituciones de salud. Otras técnicas moleculares son la tecnología de puntos de control del DNA (Check-Points

DNA technology) y la secuenciación de productos de PCR. . (Cercenado, 2015; Josa, Bustos, Torres y Esparza, 2018).

III. MÉTODO

3.1 Tipo de Investigación

Se realizó una investigación de tipo cuantitativa, retrospectiva, siendo el diseño de investigación descriptivo, transversal.

Para describir la tendencia en el tiempo de la incidencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas, se realizó un diseño observacional.

Para describir las características demográficas pacientes con hospitalizados con aislamiento de enterobacterias productoras de carbapenemasas.

3.2 Ámbito Temporal y Espacial

Ámbito Espacial.

La investigación se realizó en el Hospital Nacional Hipólito Unanue que es un hospital nacional de referencia de nivel III-1 para una población de aproximadamente 2 500 400 habitantes, con atención de consulta externa y que incluye servicios de hospitalización y la Unidad de Terapia Intensiva; con una dotación de más de 550 camas.

Ámbito Temporal.

La investigación se realizó durante el periodo comprendido desde enero 2014 hasta diciembre del año 2018.

3.3 Variables

Variable	Dimensión	Indicadores	Criterios de medición
Incidencia de Enterobacterias	Epidemiología	Cultivos con aislamiento de <i>Enterobacterias</i>	Reporte de investigación microbiológica
Producción de carbapenemasas	Laboratorio	Características fenotípicas del aislamiento: Presente, ausente.	Pruebas de detección fenotípica de carbapenemasas.

Variables Intervinientes

Variable	Tipo	Escala de medición	Indicador
Edad	Cuantitativa	Razón	Número de años cumplidos.
Sexo	Cualitativa	Nominal	Masculino, Femenino.
Procedencia	Cualitativa	Nominal	Comunitario, Hospitalizado.
Tipo de muestra	Cualitativa	Nominal	Orina, sangre, catéter, líquidos, secreciones.
Fecha de muestra	Cuantitativa	Razón	Día, mes, año por calendario

3.4 Población y Muestra

Población general atendida en los pabellones y servicios de hospitalización del Hospital Nacional Hipólito Unanue de enero 2014 a diciembre 2018.

Muestra de Estudio o Tamaño muestral

Todos los cultivos de pacientes para investigación bacteriológica de los servicios de hospitalización procesados en el servicio de microbiología del Hospital Nacional Hipólito Unanue que presentaron aislamiento de especies de enterobacterias en el periodo comprendido desde enero 2014 a diciembre 2018. Para lo cual se realizó un muestreo no aleatorio por conveniencia.

Tamaño de la Muestra

Por los escasos reportes sobre la incidencia de este problema en una zona geográfica amplia de nuestro país, se utilizó la población total que presento atención de hospitalización en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, a quienes se le solicita investigación bacteriológica como cultivos en el laboratorio de microbiología, durante el periodo de estudio, obteniéndose de 252 unidades como muestra que permitieron la identificación de 305 aislamientos.

Criterios de Inclusión y de Exclusión.

Criterios de Inclusión:

- Pacientes hombres y mujeres.
- Paciente atendido en cualquier servicio de hospitalización del Hospital Nacional Hipólito Unanue.
- Aislamiento de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* tomada de una muestra clínica.
- Confirmación fenotípica de carbapenemasas.
- Con diagnóstico clínico de infección localizada o sistémica.

Criterios de Exclusión:

- Contaminación con más de dos agentes bacterianos.
- Aislamientos bacterianos de pacientes atendidos en consultorios externos.

La selección de los pacientes en el componente de corte transversal se realizó según los criterios de inclusión y de exclusión. Se utilizó las bases de datos de cada registro anual del periodo en estudio del laboratorio del servicio de microbiología, inmunología y biología molecular del Hospital Nacional Hipólito Unanue, para la identificación de aislamientos bacterianos multirresistentes, con aislamiento de enterobacterias productoras de carbapenemasas, de los que se seleccionaron los pacientes que cumplían los criterios de

establecidos. Los datos demográficos (edad, sexo, procedencia, y fecha de muestra), y datos microbiológicos (tipo de muestra, especie bacteriana, antibiograma) se seleccionaron y se le aplicó al instrumento de recolección de datos.

3.5 Instrumentos

La recolección de los datos como la identificación del microorganismo a nivel de género y especie, y su caracterización fenotípica del perfil de susceptibilidad para las cepas de los años 2014 al 2018, se realizó por la documentación de los registros del servicio de Microbiología. Estos datos fueron registrados una ficha de recolección de la información (Anexo B), y posteriormente ingresados al programa Whonet 5.6.

3.6 Procedimientos

Para el desarrollo de la investigación se realizaron los siguientes procedimientos:

Los cultivos identificados por métodos fenotípicos de bioquímica convencional según género y especie de las enterobacterias procedentes de muestras clínicas de pacientes hospitalizados según la metodología del laboratorio de infecciones intrahospitalarias del INS. Para identificar el perfil de resistencia a los antimicrobianos se realizaron pruebas de sensibilidad por el método de disco difusión, según los lineamientos de las guías del *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI). Los aislamientos se conservaron en Caldo Tripticasa de Soya (TSB) con glicerol al 20 % y almacenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su procesamiento. Se consideró sospechoso de ser productor de carbapenemasas los aislamientos con sensibilidad disminuida (halos menores de 23 mm) a los carbapenémicos meropenem (MEM) o imipenem (IPM). La detección fenotípica de la presencia de carbapenemasa se realizó por el método de inactivación de la carbapenemasa modificado. La detección fenotípica del tipo de carbapenemasa se realizó por la prueba de sinergia de doble disco con ácido etilen diamino tetracetico (EDTA) para metalo carbapenemasas y ácido fenil borónico (APB) para serin carbapenemasas. Las placas de agar Muller Hinton se inocularon según las

recomendaciones del CLSI y los discos de EDTA (750 μ g - Bioanalyse) y APB (300 μ g - Bioanalyse) se colocaron entre los discos de MEM (30 μ g - Oxoid) y IPM (30 μ g - Oxoid) a una distancia de 15 mm, de centro a centro (entre los discos con antibiótico y el inhibidor). Las placas se incubaron por 18 horas a 35°C. Luego se realizó la lectura y se interpretó como presencia de carbapenemasas cuando existía un agrandamiento o distorsión entre los halos de inhibición de los discos de IPM o MEM hacia el disco del inhibidor.

Se realizó la documentación de los registros de pacientes hospitalizados con aislamiento de enterobacterias productoras de carbapenemasas identificadas por métodos fenotípicos en el laboratorio de microbiología, registrándose los datos demográficos en el programa Whonet 5.6.

3.7 Análisis de Datos

Los datos obtenidos, se consignaron en las fichas de recolección de datos y fueron procesados y analizados a través de una base de datos con el programa Whonet 5.6; con acceso del investigador principal, garantizando la custodia y confidencialidad de la información almacenada. Posteriormente, se agruparon en categorías según el número de observaciones en cada variable para describir el comportamiento epidemiológico a través del tiempo; y se expresaron mediante distribución de frecuencias y porcentajes de acuerdo a los objetivos de la investigación. Las tablas y gráficos fueron realizados en formatos de Microsoft Office.

3.8 Consideraciones Éticas

La investigación sobre la incidencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Nacional Hipólito Unanue es un estudio observacional que permite describir el comportamiento a través del tiempo de la incidencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas, dado su diseño metodológico y en consenso con la declaración de Helsinki es viable desde el punto de vista ético, respeta los derechos del

paciente participante, dado que es un estudio retrospectivo, sin ninguna intervención sobre los pacientes y la fuente de consecución de datos es la revisión de la base de datos de pacientes con aislamiento de Enterobacterias productoras de carbapenemasas, no afectando a los individuos participantes en el estudio. El proyecto fue revisado y aprobado por parte del Comité de Ética de Investigación del Hospital Nacional Hipólito Unanue. (Anexo D)

IV. RESULTADOS

Durante el periodo enero 2014 hasta diciembre 2018, se identificaron 4687 aislamientos de especies de Enterobacterias a partir de 3548 pacientes hospitalizados a quienes se les realizó cultivo de muestras clínicas. Las especies más frecuentes recuperadas de muestras clínicas fueron *Escherichia coli* (52,8%), *Klebsiella pneumoniae* (29,2%), *Proteus mirabilis* (5,5%) y *Enterobacter cloacae* (4,2%). Menos frecuentes fueron *Serratia marcescens* (1,4%), *Morganella morganii* (1,4%), *K. aerogenes* (0,9%), y otras especies representaron una muy baja frecuencia. (Tabla 1)

Tabla 1

Frecuencia de especies de Enterobacterias aisladas en pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el periodo enero 2014 – diciembre 2018.

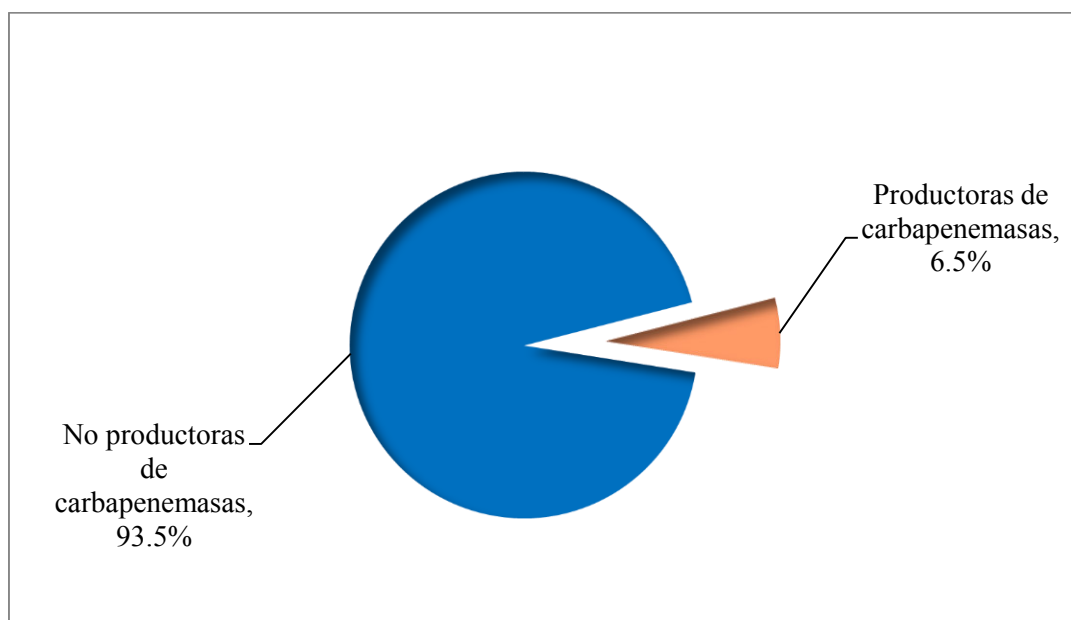
Microorganismo	Número aislamientos	de (%)
<i>Escherichia coli</i>	2475	52.8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1368	29.2
<i>Proteus mirabilis</i>	260	5.5
<i>Enterobacter cloacae</i>	197	4.2
<i>Serratia marcescens</i>	66	1.4
<i>Morganella morganii</i>	64	1.4
<i>Klebsiella aerogenes</i>	40	0.9
<i>Enterobacter sp.</i>	29	0.6
<i>Salmonella sp.</i>	26	0.6
<i>Klebsiella oxytoca</i>	26	0.6
<i>Proteus vulgaris</i>	24	0.5
<i>Otros agentes</i>	112	2.4
TOTAL	4687	100

Fuente: Datos de la investigación.

Los aislamientos de las enterobacterias que presentaron sensibilidad disminuida a los carbapenémicos meropenem e imipenem, fueron probados con el método de inactivación del carbapenémico (MIC). Además, se complementó la identificación del tipo de carbapenemasa por métodos fenotípicos como el método de aproximación de discos con los inhibidores de carbapenemasas como el EDTA y el ácido fenil borónico, observándose una frecuencia del 6.5% de aislamientos con capacidad de producir carbapenemasas. (Figura 1)

Figura 1.

Frecuencia de enterobacterias según producción de carbapenemasas aisladas de pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.



Fuente: Datos de la investigación

Los métodos de identificación fenotípica permitieron detectar 305 aislamientos de Enterobacterias productoras de carbapenemasas durante el periodo de estudio 2014-2018, siendo las especies más frecuentes *Klebsiella pneumoniae* (77,7%), *Proteus mirabilis* (9,8%), *Escherichia coli* (4,6%), y *Enterobacter cloacae* (2,6%). Menos frecuentes fueron *Providencia rettgeri* (1,3%), *K. aerogenes* (1,3%), *Morganella morgannii* (0,7%),

Providencia stuartii (0.7%), y otras especies con muy baja frecuencia fueron *Klebsiella oxytoca*, *P. vulgaris*, *P. alcalifaciens* y *Serratia marcescens* (0,3%). (Tabla 2, Figura 2)

Tabla 2

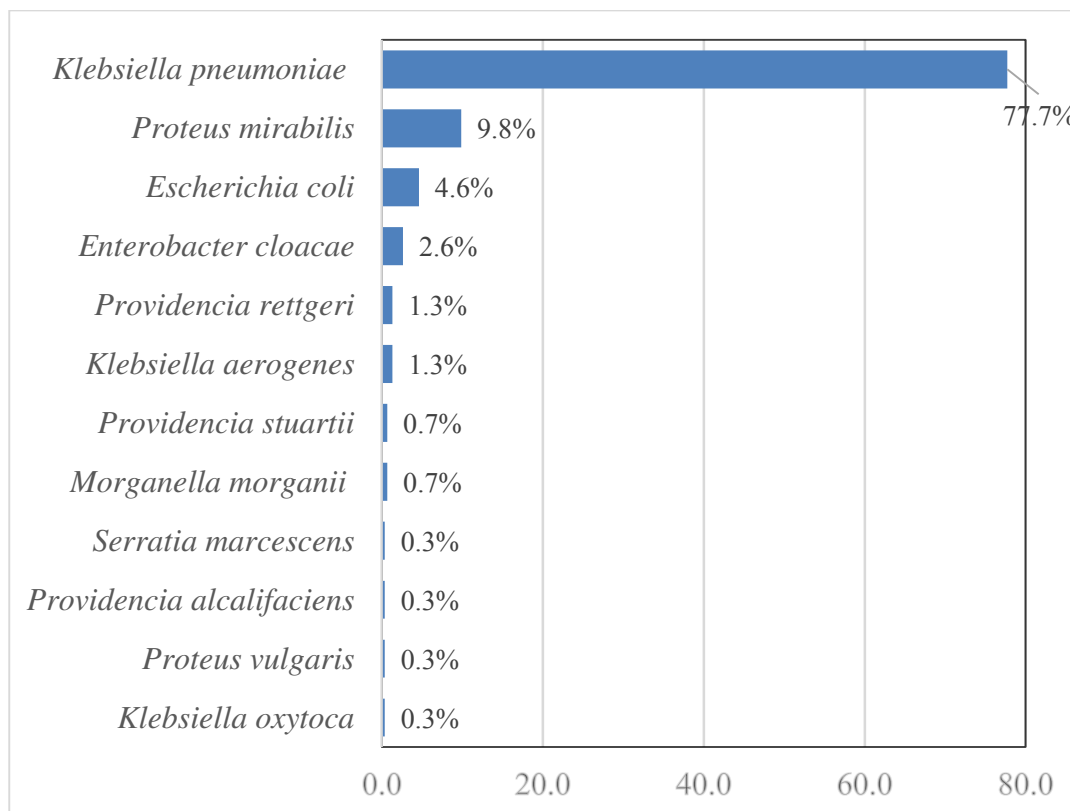
Frecuencia de Enterobacterias Productoras de Carbapenemasas en pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el periodo 2014 – 2018.

Microorganismo	Número de aislamientos	Frecuencia (%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	237	77.7
<i>Proteus mirabilis</i>	30	9.8
<i>Escherichia coli</i>	14	4.6
<i>Enterobacter cloacae</i>	8	2.6
<i>Klebsiella aerogenes</i>	4	1.3
<i>Providencia rettgeri</i>	4	1.3
<i>Morganella morganii</i>	2	0.7
<i>Providencia stuartii</i>	2	0.7
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0.3
<i>Proteus vulgaris</i>	1	0.3
<i>Providencia alcalifaciens</i>	1	0.3
<i>Serratia marcescens</i>	1	0.3
Total	305	100

Fuente: Datos de la investigación.

Figura 2.

Distribución de Enterobacterias Productoras de Carbapenemasas en pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el periodo 2014 – 2018.



Fuente: Datos de la investigación

Se determinaron las características demográficas de los pacientes hospitalizados con aislamientos de enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018, observándose en un total de 3548 pacientes con aislamiento de enterobacterias, una distribución según el sexo de 2175 (61,3%) femenino y 1373 (38,7%) masculino. Del total de pacientes mujeres se aislaron 2774 cepas de enterobacterias, encontrándose 165 (5,9%) aislamientos de EPC. Mientras, en el grupo masculino se aislaron 1913 cepas, siendo 140 (7,3%) aislamientos de EPC. (Tabla 3) De los 252 pacientes con aislamiento de EPC la distribución según el sexo mostro un ligero predominio en pacientes femeninos (54,4%) frente al masculino (45,6%), con una relación mujer: hombre de 1,2. (Figura 3).

Tabla 3

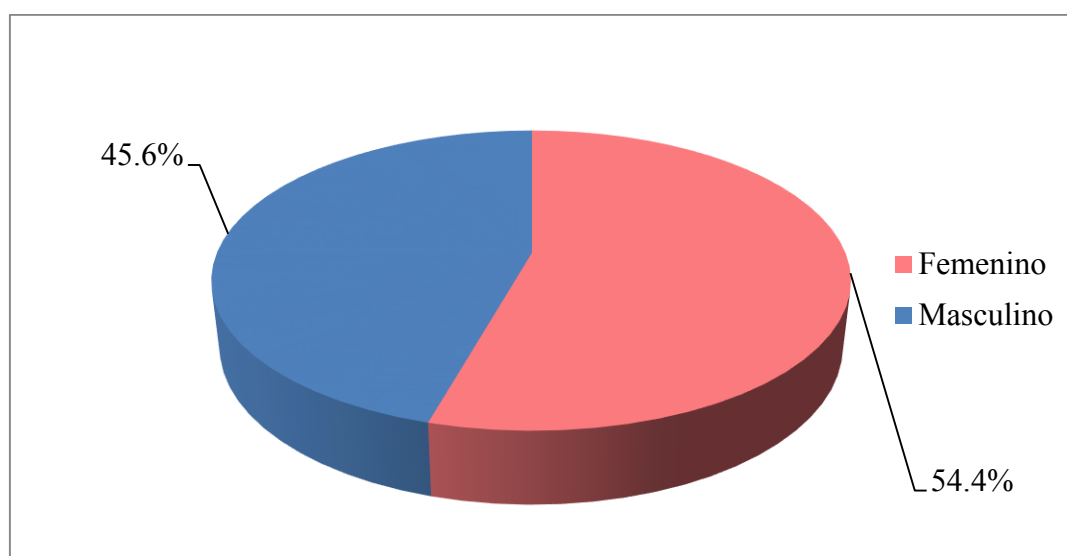
Distribución según el sexo de pacientes hospitalizados con aislamientos de Enterobacterias del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el periodo 2014 – 2018.

Sexo	Nº de pacientes	Aislamientos	Nº de pacientes con EPC	Aislamientos de EPC
Femenino	2175	2774	137	165
Masculino	1373	1913	115	140
Total	3548	4687	252	305

Fuente: Datos de la investigación.

Figura 3

Distribución según el sexo de pacientes hospitalizados con aislamientos de Enterobacterias productoras de Carbapenemasas en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.



Fuente: Datos de la investigación.

La distribución de los pacientes hospitalizados que presentaron aislamientos de EPC según la edad, presento un promedio de edad de 53,2 años con una desviación estándar de

+/- 20,9. Presentando por las etapas de vida una distribución por grupos de edades, con una menor frecuencia en niños con el rango de menores de 12 años con 1,6%, en adolescentes de 12 a 17 años con 1,2 %; y en jóvenes en el rango de 18 a 29 años con 15,9%. Encontrándose una mayor frecuencia con 40,9% en adultos de 30 a 59 años y en adultos mayores a 60 años 40,5%, observándose una tendencia de aumento en la frecuencia con respecto a la edad (Tabla 4, *Figura 4*).

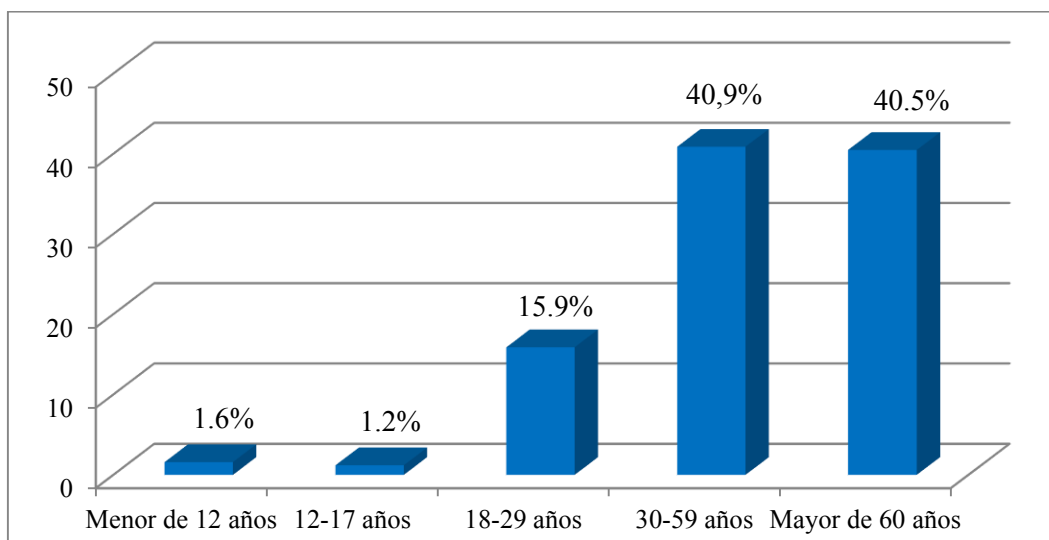
Tabla 4

Distribución según grupos de edad de pacientes hospitalizados con aislamientos de Enterobacterias productoras de Carbapenemasas. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.

Grupos de edad	N°	%	I.C. 95%
Menor de 12 años	4	1.6	0,62 – 4,01
12-17 años	3	1.2	0,41 – 3,44
18-29 años	40	15.9	11,8-20,9
30-59 años	103	40.9	34,9 – 47,0
Mayor de 60 años	102	40.5	34,6 – 46,6
Total	252	100	

Figura 4.

Distribución según grupos de edad de pacientes hospitalizados con aislamientos de enterobacterias productoras de carbapenemasas. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.



Fuente: Datos de la investigación

Según la procedencia de los pacientes que presentaron cultivos con aislamiento de enterobacterias productoras de carbapenemasas, con una mayor frecuencia procedieron de los servicios de Medicina Interna 35,7% (92/258), seguido por la Unidad de Terapia Intensiva 18,4% (48/258), Cirugía general 15,4% (41/258), Cirugía de especialidades 10,5% (27/258), Neumología 5,4% (14/258), Infectología 5,4% (14/258), Cirugía torácica 4,3% (11/258), y con una menor frecuencia procedían de otros servicios de hospitalizados como: Ginecología 3,1%, Neonatología 0,8% y Pediatría 0,4%. (Tabla 5, Figura 5).

Tabla 5

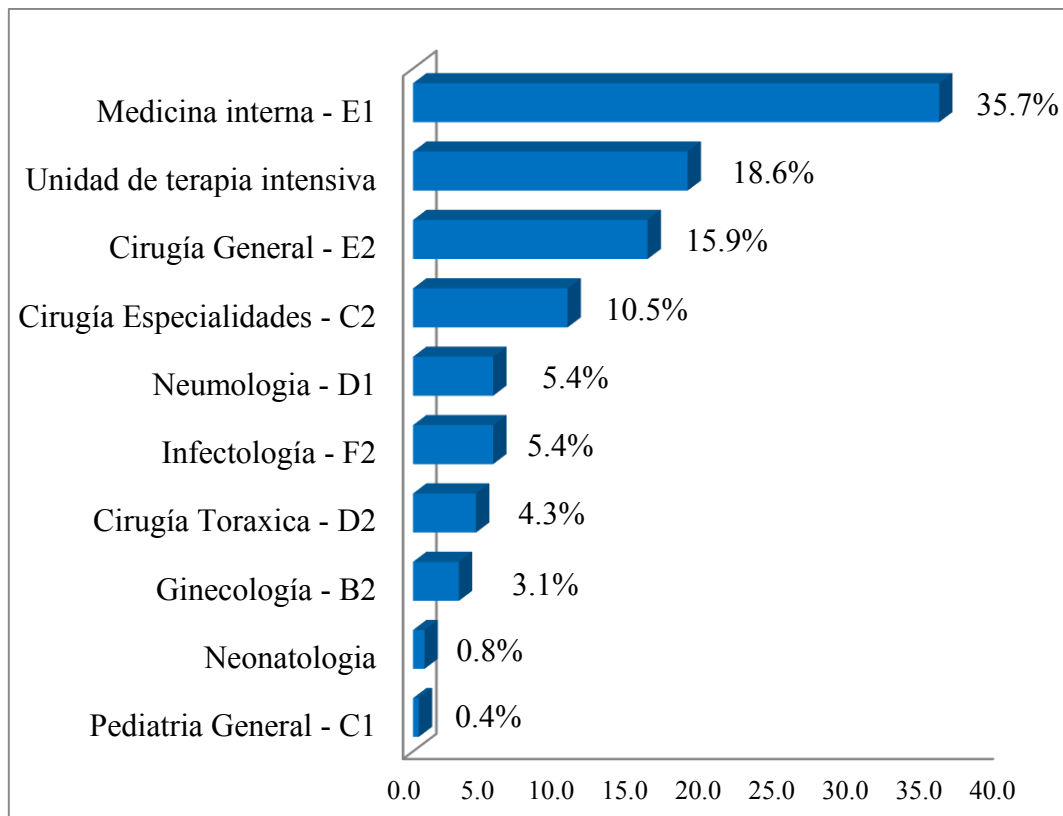
Distribución según la procedencia de los pacientes hospitalizados con aislamientos de Enterobacterias Productoras de Carbapenemasas en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.

Servicio de Procedencia	N°	%	I.C. 95%
Medicina interna	92	35,7	30,8 – 42,6
Unidad de terapia intensiva	48	18,6	14,7 – 24,4
Cirugía General	41	15,9	11,9-20,9
Cirugía Especialidades	27	10,5	7,3-14,8
Infectología	14	5,4	3,3 – 9,1
Neumología	14	5,4	3,3 – 9,1
Cirugía Torácica	11	4,3	2,4-7,5
Ginecología	8	3,1	1,62 – 6,14
Neonatología	2	0,8	0,22 – 2,85
Pediatría General	1	0,4	0,07 – 2,21
TOTAL	258	100	

Fuente: Datos de la investigación.

Figura 5.

Distribución de pacientes hospitalizados con aislamientos de Enterobacterias productoras de Carbapenemasas. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.



Fuente: Datos de la investigación

Las especies de enterobacterias, que presentaron resistencia a carbapenémicos como imipenem y meropenem, según el tipo de muestra de donde fueron recuperadas, se distribuyeron con mayor frecuencia en muestras de orina 29,8% (91/305), bronquial 17% (52/305), catéter intravascular 13,8% (42/305), herida 11,5% (35/305), traqueal 6,6% (20/305), sangre 4,6% (14/305), menos frecuentes fueron las cepas recuperadas de líquido pleural 3.3% (10/305), esputo 3% (9/305), drenaje 3% (9/305), líquido abdominal 2% (6/305), aislándose también con una muy baja frecuencia en muestras de ulcera, absceso, líquido cefalorraquídeo, fístula, secreción vaginal y tejido. (Tabla 6)

Tabla 6

Frecuencia de las enterobacterias productoras de carbapenemasas según tipo de muestra, aisladas de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 - 2018.

Tipo de muestra	Número de aislamientos	Frecuencia (%)
Orina, chorro medio	91	29.8
Bronquial	52	17.0
Catéter central	42	13.8
Herida	35	11.5
Traqueal	20	6.6
Sangre	14	4.6
Líquido pleural	10	3.3
Espuito	9	3.0
Drenaje	9	3.0
Líquido abdominal	6	2.0
Úlcera	5	1.6
Absceso	4	1.3
Líquido cefalorraquídeo	3	1.0
Fístula	3	1.0
Vaginal	1	0.3
Tejido	1	0.3
Total	305	100

Fuente: Datos de la investigación

El comportamiento frente a los antimicrobianos en las enterobacterias productoras de carbapenemasas de nuestro estudio durante el periodo 2014 – 2018, se evaluó por el método de disco difusión y micro dilución en caldo. Asimismo, se interpretaron los resultados de la prueba de sensibilidad con los criterios del CLSI vigente al año 2018, por lo que se elaboró el perfil de sensibilidad frente a los antimicrobianos betalactámicos y no betalactámicos.

Solo dos especies fueron las más frecuentes en nuestro estudio: *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis*, presentando un número importante de aislamientos, siendo significativo para el análisis estadístico por lo que se elaboró sus perfiles de sensibilidad. Los antibióticos no betalactámicos frente a los cuales las cepas de *K. pneumoniae* productoras de carbapenemasa presentaron sensibilidad, fue amikacina en 80,6%, colistina 99,2%, doxiciclina 63,7%, y nitrofurantoína 31,3%. Menos sensibles fueron frente a cloranfenicol 5,3%, gentamicina 4,2%, trimetoprima/sulfametoxazol 2,5%, ciprofloxacino 0,8%. (Tabla 7, Figura 6).

Tabla 7

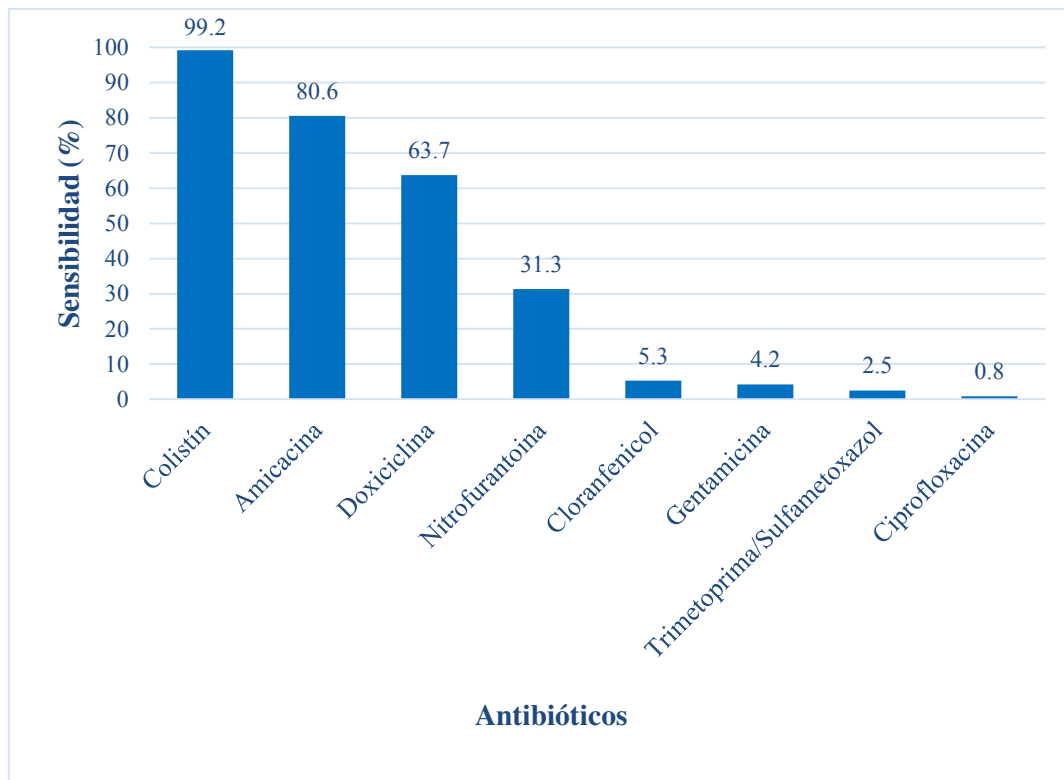
Sensibilidad de antibióticos no betalactámicos en aislados clínicos de Klebsiella pneumoniae productora de carbapenemasa. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.

Nombre del antibiótico	Número	%S	%S 95%I.C.
Amikacina	237	80.6	75.1-85.1
Ciprofloxacina	237	0.8	0.2-3.0
Gentamicina	237	4.2	2.3-7.6
Trimetoprima/Sulfametoxazol	237	2.5	1.2-5.4
Doxiciclina	201	63.7	56.8-70
Cloranfenicol	171	5.3	2.8-9.7
Colistín	121	99.2	95.5-99.9
Nitrofurantoina	67	31.3	21.5-43.2

Fuente: Datos de la investigación

Figura 6.

Sensibilidad de antibióticos no betalactámicos en aislados clínicos de K. pneumoniae productora de carbapenemasa. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.



Fuente: Datos de la investigación

Los aislados de *Proteus mirabilis* productores de carbapenemasa representaron el segundo lugar en frecuencia, siendo la sensibilidad frente a los antibióticos no betalactámicos muy baja, teniendo sensibilidad en amikacina de 16,7%, doxiciclina 5,9%, gentamicina 3,3%, ciprofloxacina 3,3%, cloranfenicol y trimetoprima/ sulfametoxazol no presentaron aislamientos sensibles. *P. mirabilis* presenta resistencia intrínseca frente a nitrofurantoina y colistina, si bien es cierto que los aislamientos presentaron carbapenemasas y resistencia a casi todos los antibióticos betalactámicos, en los aislamientos probados se encontró un 100% de sensibilidad frente al aztreonam. (Tabla 8, Figura 7).

Tabla 8

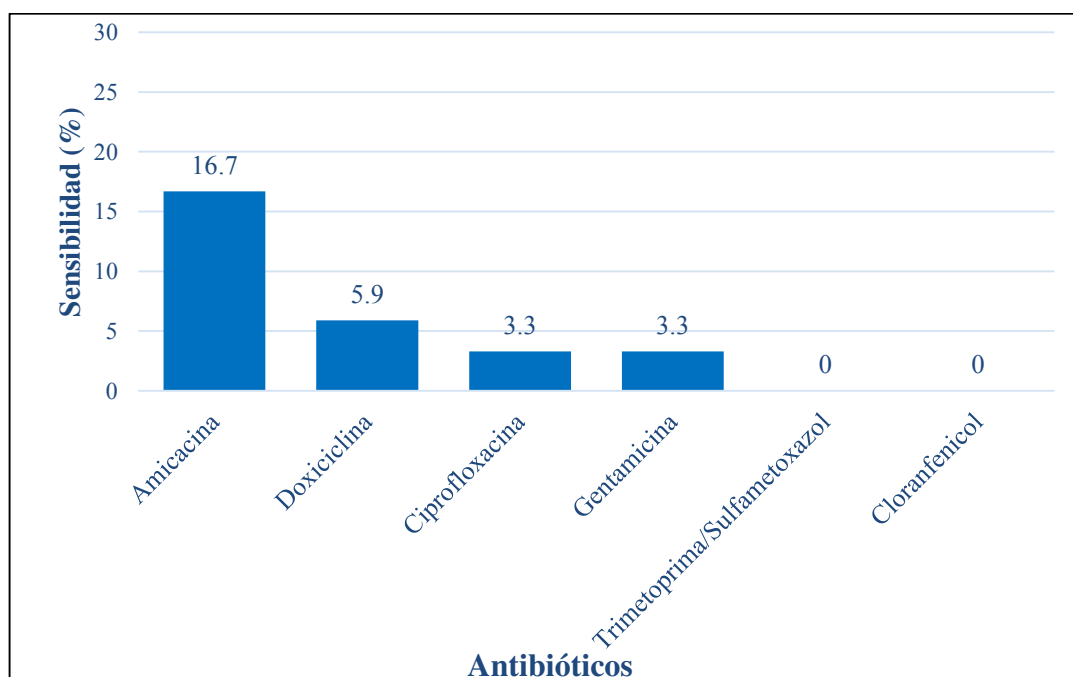
Sensibilidad a los antibióticos no betalactámicos en aislados clínicos de Proteus mirabilis productores de carbapenemasa en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.

Nombre del antibiótico	Número	%S	%S 95% I.C.
Amicacina	30	16.7	7.3-33.6
Ciprofloxacina	30	3.3	0.6-16.7
Gentamicina	30	3.3	0.6-16.7
Trimetoprima/Sulfametoxazol	30	0	0.0-11.4
Doxiciclina	17	5.9	1.1-26.9
Cloranfenicol	15	0	0.0-20.1

Fuente: Datos de la investigación

Figura 7.

Sensibilidad a los antibióticos en aislados clínicos de Proteus mirabilis productores de carbapenemasa en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.



Fuente: Datos de la investigación

Tabla 9

Perfil de resistencia a los antimicrobianos de enterobacterias productoras de carbapenemasas, Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2014 – 2018.

Microorganismo	Número de aislamientos	Sensibilidad (%)													
		Amox/Ac.Clav	Cefazolina	Cefotaxima	Cefepime	Imipenem	Meropenem	Ciprofloxacino	Gentamicina	Amikacina	Cotrimoxazol	Nitrofurantoina	Doxiciclina	Fosfomicina	Colistina
<i>Klebsiella sp.</i>	242	0.8	0	0	0	0.8	0	0.8	4.5	80.2	2.5	30	63.2	66.7	99.6
<i>Proteus sp.</i>	31	0	0	0	0	0	0	3.2	3.2	16.1	0	-	5.6	-	-
<i>Escherichia coli</i>	14	7.1	0	0	0	0	0	7.1	35.7	57.1	15.4	62.5	0	77.8	100
<i>Enterobacter sp.</i>	8	0	0	0	0	0	0	12.5	25	50	12.5	-	42.9	-	100
<i>Providencia sp.</i>	7	0	0	0	0	0	0	14.3	14.3	71.4	0	-	20	-	-

Fuente: Datos de la investigación

Se observó en los aislamientos de *Klebsiella sp.* una mayor sensibilidad frente a los antibióticos no betalactámicos como colistina (99,6%), amikacina (80,2%) y doxiciclina (63,2%), con menor sensibilidad en nitrofurantoina (30%). *Proteus sp.* solo mostro sensibilidad en amikacina (16,1%), y con una menor sensibilidad doxiciclina (5,6%), gentamicina (3,2%) y ciprofloxacino (3,2%). Las cepas de *Escherichia coli* presentaron una mayor sensibilidad frente a colistina (100%), fosfomicina (77,8%), nitrofurantoina (62,5%), amikacina (57,1%) y gentamicina (35,7%), y con una menor sensibilidad frente a cotrimoxazol (15,4%) y ciprofloxacino (7,1%). Las especies de *Enterobacter* presentaron mayor sensibilidad frente a colistina (100%), amikacina (50%), y con una menor sensibilidad en doxiciclina (42,9%), gentamicina (25%), cotrimoxazol (12,5%) y ciprofloxacino (12,5%). No se estableció el perfil de sensibilidad en las otras especies dado

que presentaron muy pocos aislamientos, siendo necesario un mayor número de aislamientos para una mejor significancia estadística. (Tabla 9)

Para determinar la distribución de la incidencia de aislamientos de enterobacterias productoras de carbapenemasas por cada año durante el periodo de estudio en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, se estableció la población de aislamientos de especies de enterobacterias y el total de las enterobacterias productoras de carbapenemasa por año, calculándose la incidencia anual durante el periodo 2014 – 2018. (Tabla 10)

Tabla 10

Distribución de la Incidencia de Aislamientos de Enterobacterias Productoras de Carbapenemasas por Año, Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.

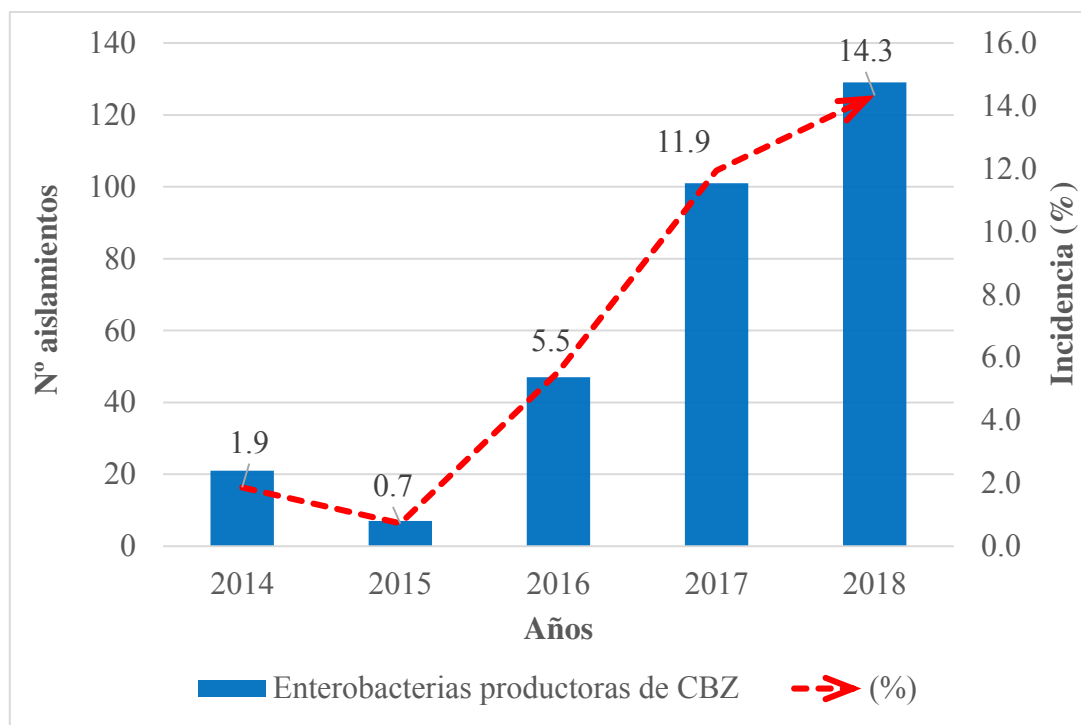
Año	Microorganismos		
	Aislamientos de Enterobacterias por año	Enterobacterias productoras de carbapenemasa	Incidencia (%)
2014	1123	21	1.9 %
2015	970	7	0.7 %
2016	848	47	5.5 %
2017	846	101	11.9 %
2018	900	129	14.3%
Total	4687	305	6.5 %

Fuente: Datos de la investigación

Se encontró una incidencia anual en el año 2014 del 1,9% (21/1123) de enterobacterias productoras de carbapenemasas, durante el año 2015 disminuyó a 0,7% (7/970), después durante el 2016 se incrementó la incidencia anual a un 5,5% (47/848). En el año 2017 se encontró una mayor incidencia con respecto al año anterior con un 11,9% (101/846), y en el año 2018 observamos el periodo con la mayor incidencia ya que se encontró un 14,3% (129/900). Notándose así, una clara tendencia al incremento de la incidencia anual durante un periodo de 5 años. Observándose, de esta manera una incidencia promedio de enterobacterias productoras de carbapenemasas del 6.5% del 2014 al 2018. (Tabla 10, Figura 8)

Figura 8.

Tendencia de la incidencia de aislamientos de enterobacterias productoras de carbapenemasas por año, Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 – 2018.



Fuente: Datos de la investigación

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En nuestra investigación uno de los objetivos fue determinar las especies de enterobacterias productoras de carbapenemasas que se reportaron en pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el periodo de estudio enero 2014 hasta diciembre 2018, encontrando por primera vez la presencia de algunas especies bacterianas implicadas en este problema en el Perú. Lo que permite contar con información local de agentes microbianos resistentes a carbapenémicos que motive realizar nuevas investigaciones. Además de evidenciar el perfil de resistencia, dado que el fenotipo de las bacterias multiresistentes son motivo de gran preocupación, porque limitan las estrategias terapéuticas, causando así un alto riesgo para la vida de los pacientes. (Escandón *et al.*, 2017)

Según lo observado en la investigación a partir de pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue a quienes se les realizó cultivo de muestras clínicas, se aisló especies de Enterobacterias durante el periodo de estudio. Se describen una variada diversidad de especies, siendo más frecuentes *Escherichia coli* (52,8%), *Klebsiella pneumoniae* (29,2%), *Proteus mirabilis* (5,5%), *Enterobacter sp* (5,7%), y con menor frecuencia *Serratia marcescens* (1,4%) y *Morganella morganii* (1,4%).

En nuestro estudio al determinar la frecuencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) en pacientes hospitalizados durante el periodo 2014-2018 se observó una incidencia global del 6.5% (305/4687), lo que es muy importante para establecer la presencia de bacterias multiresistentes a los antimicrobianos en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. Siendo concordante con otros investigadores como Pintos *et al.* (2020) en un hospital de tercer nivel en España quienes reportaron una incidencia global de 5,2% en el periodo 2014-2016; Echeverri & Cataño cita a Bratu, que en el año 2003, en 11 hospitales de Brooklyn reporta 3,3% de EPC; Gómez *et al.* (2014) en Venezuela en el periodo 2009-

2013 reportaron una prevalencia de 1,7% de EPC; Padilla *et al.* (2018) en La Mancha, España reportaron una incidencia de 1,4% EPC en pacientes hospitalizados durante el periodo 2015-2016; Gonzales *et al.* (2019) en España en un hospital de tercer nivel reportan incidencias de 0.54% a 1.2%, en el periodo 2012-2015. Sin embargo, nuestros resultados son discordantes con otros estudios como el de Echavarría *et al.* (2017) en un Hospital de Buenos Aires durante el periodo 2014 -2015 reportan prevalencias de EPC de 18 a 25% en pacientes hospitalizados; Villegas *et al.*, (2016) reportan un 20,7% de EPC aisladas de bacteriemias en 11 hospitales de Latinoamérica; Bora *et al.* (2014) en un hospital docente de tercer nivel en Nepal reporta 19,9% de EPC; Arbizú en Nicaragua en pacientes hospitalizados encontró 18% de EPC durante el 2015-2016 (Arbizú *et al.*, 2018); Moreno *et al.* (2015) reportan en Carabobo 14,5% de EPC; Ocampos & Takahasi, (2015) en Paraguay mencionan una incidencia de EPC del 13% en pacientes hospitalizados; Justo *et al.* (2018) en un servicio de urología del hospital universitario de Madrid reportaron una incidencia de 9,7% de EPC. Los reportes de incidencia de EPC pueden variar dependiendo del lugar y el tiempo, así como podrían estar influenciados por varios factores como el servicio de hospitalización, la estancia prolongada, procedimientos invasivos, el uso de antimicrobianos de amplio espectro, presencia de brotes entre otros, por lo que es necesario un monitoreo permanente.

Al identificar las especies de EPC de aislamientos clínicos de pacientes hospitalizados en nuestro estudio, se observan mayor frecuencia en *Klebsiella pneumoniae* (77,7%), *Proteus mirabilis* (9,8%), *Escherichia coli* (4,6%), y menos frecuentes *P. rettgeri*, *K. aerogenes*, *M. morgannii*, *P. stuartii*, *K. oxytoca*, *P. vulgaris*, *P. alcalifaciens* y *S. marcescens*. De estas especies, *K. pneumoniae* fue de lejos el principal agente bacteriano, y seguido por *Proteus mirabilis* y *E. coli*. Siendo nuestros resultados coincidentes con lo reportado en varios estudios realizados en la región, en Europa y Asia; como Justo-Quintas

et al., (2018) en España reportaron en *K. pneumoniae* 91,7% y *Enterobacter sp.* 8,3%; Nastro *et al.*, (2016) en Argentina reportan como especies más prevalentes *K. pneumoniae* 82,6% y *Enterobacter sp.* 15%; Ruiz Carrascoso, (2016) reportó en *K. pneumoniae* 90%, y *E. coli* 6,8%; Lopez-Dosil *et al.*, (2017) en España reportaron *K. pneumoniae* 87,8%, *E. coli* 5,6% y *Enterobacter sp.* 4,6%; Han *et al.*, (2020) del estudio en 36 hospitales en China encontró *K. pneumoniae* 76%, *E. coli* 16% y *Enterobacter sp.* 4,3%; Gómez-Gamboa, *et al.*, (2014) en Maracaibo, Venezuela detecto EPC en *K. pneumoniae* 75,4%, *K. oxytoca* 8,5%, *Enterobacter sp.* 7,8% y *E. coli* 6,2%; Villegas *et al.*, (2016) reportaron *K. pneumoniae* 73%, *Enterobacter sp.* 17%, *S. marcescens* 4%, *E. coli* 2% y otros 2%; Caldera Gutiérrez & Robles Cortes, (2017) en Nicaragua describen *K. pneumoniae* 69%, *E. cloacae* 12%, *E. coli* 8%, y *P. mirabilis*, 3%; Alvim, Couto, & Gazzinelli, (2019) en Brasil reportaron *K. pneumoniae* 68%, *S. marcescens* 23% y *Enterobacter cloacae* 9%; Oliveros *et al.*, (2015) en un hospital de tercer nivel en Colombia reportaron *K. pneumoniae* 64%, *S. marcescens* 20%, *Enterobacter sp.* 11%, *K. ozaenae* 3% y *E. coli* 2%; Sacsquispe & Bailón (2018) reportan genes de resistencia a carbapenémicos en EPC de hospitales del Perú, con *K. pneumoniae* 66,3%, *Proteus mirabilis* 13,3%, *Enterobacter sp.* 9,6%, *Providencia rettgeri* 4,8%, *E. coli* 3,6%, *Citrobacter freundii* 1,2%, *Providencia stuartii* 1,2%; Moreno *et al.*, (2015) reportan *K. pneumoniae* 77,8%, *Enterobacter sp.* 11,1% y *E. coli* 11,1%; Arbizú *et al.*, (2018) reportaron *K. pneumoniae* 66%, *Escherichia vulneris* 14%, *E. coli* 5%, *P. rettgeri* 5%, *Pantoea agglomerans* 5%, *Kluyvera cryocrescens* 5%; Pintos *et al.*, (2020) reportaron *K. pneumoniae* 62,7%, *E. cloacae* 10,1%, *K. oxytoca* 8,9% y *E. coli* 6,6%. Otros investigaciones con variaciones en la frecuencia de aislados de EPC, siendo no concordantes con nuestros resultados el estudio de Gonzáles-Rubio *et al.*, (2019) en España con *K. pneumoniae* 44,7%, *K. oxytoca* 22,4%, *Enterobacter sp.* 10,9%, *Serratia sp* 10,1%, *E. coli* 6,7% y *Citrobacter sp* 5%; García Vela (2018) reporta EPC con *K. pneumoniae* 30,9%, *S.*

marcescens 25,4%, *E. cloacae* 21,9%, *K. oxytoca* 20% y *E. coli* 1,8%; Asimismo, Hernández García *et al.*, (2018) reportaron *K. pneumoniae* (53,5%), *E. coli* (19,2%) y *E. cloacae* (11,1%). El número de aislamientos de especies bacterianas de un mismo paciente puede ser influenciado por la cantidad de muestras solicitadas, cuadro clínico y servicio de procedencia, por lo que cada especie bacteriana se ha registrado una sola vez por muestra para cada paciente, sin considerar todos los aislamientos de esa misma especie.

Para describir las características demográficas de pacientes hospitalizados con aislamientos de EPC en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, se identificaron la edad, sexo y servicio de procedencia. En nuestro estudio se reportan aislamientos de EPC en todos los grupos de edad, con una media de 53,2% +/- 20,9 años. En pacientes menores de 18 años se encontró 2,8%, sin embargo, la mayor frecuencia de casos reportados fue en los pacientes del grupo de 30 a 59 años con 40,9%, y en mayores de 60 años fue un 40,5% notándose una tendencia a una mayor frecuencia de EPC con respecto a la edad, siendo similar con otros estudios como Ocampos & Takahasi, (2015) que muestran una edad media de 51 +/- 15 años (rango de 20 – 90 años); Resurrección *et al.*, (2017) en Perú reporta pacientes con aislamientos de *K. pneumoniae* productor de carbapenemasas con una mediana de edad de 56 años; Villegas *et al.*, (2016) reportaron de siete países de Latinoamérica un promedio de edad de 60 años (rango 0.1–99); Echavarría *et al.*, (2017) en Argentina, observo una mediana de 76 años. Además, nuestros resultados difieren con otros estudios que reportan población con grupos de mayor edad como López Dosil *et al.*, (2017) en Madrid reporta en un hospital comarcal 85,3 años y en un hospital de media estancia 81,8 años como edad media; Justo *et al.*, (2018) en España describen un rango de edad entre 44 y 93 años, con una mediana de 75 años; Hernández García *et al.*, (2018) reporta una mediana de 74 años y en un rango de 26-98 años; Rojo *et al.*, (2018) en España describe un promedio de edad de 73,2 años; Pintos *et al.*, (2020) menciona una media de edad de 70,4 años (IC 95% 68,2 -72,7); Salamanca

(2017) en un estudio multicéntrico e internacional de 37 centros de 12 países de bacteriemias por EPC, menciona una edad promedio de 66 años, con un rango de 54 – 76 años; Nastro *et al.*, (2016) reportaron una edad promedio de 65 años (rango 17 – 99 años); Padilla *et al.*, (2018) reportaron pacientes con una edad media de 64 +/- 13,8 años; Oliveros *et al.*, (2015) reportaron una edad promedio de 62 +/- 14 años. Además, nuestros resultados difieren con los estudios de Logan citado por Márquez (2017) que reporta infecciones por EPC en niños en seis estudios entre el 2002 y el 2010 con una edad media de un año (rango 0 – 17 años); Gómez-Gamboa *et al.*, (2014) en Venezuela, reportaron 31,8% en adultos entre 31 y 59 años y en menores de 3 meses 30%, González-Rubio *et al.*, (2019) en Madrid reportaron 47,6% en menores de 5 meses de edad; Bora *et al.*, (2014) reportaron con un rango de edad de 10 días a 72 años. Los estudios muestran que las EPC presentes en todos los grupos de edad, son más frecuentes en pacientes adultos y adultos mayores, siendo muy marcado este panorama en los estudios de Europa y países de nuestra región.

Respecto a la distribución según el sexo los resultados de nuestro estudio enumeran los aislamientos de EPC fueron más frecuentes en pacientes femeninas con un 54,4%; similar a los obtenidos en estudio en la región como el realizado por Ocampo & Takahasi (2015) en Paraguay que reportaron un 50% en el sexo femenino; Resurrección *et al.*, (2017) en Perú reportan 56% en mujeres; Echavarría *et al.*, (2017) en Argentina, reportaron 56,5% en mujeres. López *et al.*, (2017) en Madrid reportaron 67% en mujeres. Siendo nuestros datos discordantes con lo observado en otros estudios, donde la mayor frecuencia se encontró en el género masculino como el estudio de Justo *et al.*, (2018) en pacientes de urología, con 75% en hombres; Rojo *et al.*, (2018) reportaron en España que el 68,8% fueron hombres; Alvim, Couto, & Gazzinelli, (2019) describen 66% en hombres; Oliveros *et al.*, (2015), reportan 66% en hombres; Padilla *et al.*, (2018) reportaron 63,3% en hombres; Hernández García *et al.*, (2018) en Madrid describe en hombres 59,9%; Villegas *et al.*,

(2016) mencionan 59% en hombres; Salamanca (2017) reporta 58.1% en hombres; Nastro *et al.*, (2016) en Argentina, encontraron 58% en hombres; Pintos *et al.*, (2020) muestra una distribución con 57% en hombres; Gómez-Gamboa *et al.*, (2014) en Venezuela observaron 55,8% en hombres; Bora *et al.*, (2014) en Nepal reportan 53,5% en hombres; González-Rubio *et al.*, (2019) en Madrid reporto 50,7% en hombres. Se observa en los estudios una mayor distribución en pacientes masculinos, que podría estar relacionado con otros factores como la edad o enfermedades de fondo.

Una característica demográfica descrita fue la procedencia de los pacientes hospitalizados con aislamientos de enterobacterias productoras de carbapenemasas, siendo la mayor frecuencia los procedentes de los servicios de medicina interna 35,7%, la unidad de terapia intensiva 18,6%, y cirugía general 15,9%; y en menor frecuencia cirugía de especialidades 10,5%, neumología 5,4%, infectología 5,4%, cirugía torácica 4,3%, ginecología 3,1%, neonatología 0,8% y pediatría 0,4%. Representando, que las EPC se distribuyen de manera focalizada en algunas áreas de hospitalización del Hospital Nacional Hipólito Unanue. Resultados similares se observan en otros estudios como el de Rojo *et al.*, (2018) que menciona 57% en medicina, 25% en unidad de cuidados intensivos, 6% nefrología, 6% digestivo y otros servicios; Bora *et al.*, (2014) reporta 52,5% en unidad de cuidados intensivos y otros servicios 47,5%; González-Rubio *et al.*, (2019) reporto EPC procedentes de la unidad de cuidado intensivo 52,1%, Pediatría 11%, trasplantes 24,1% y otros 12,8%; Salamanca Rivera reporta EPC procedentes de medicina 40,2%, UCI 36.5%, cirugía 12.7% y urgencias 10.6%. Siendo discordante con los hallazgos del estudio de Resurrección *et al.*, (2017) en una serie de casos menciona que el 100% se encontraron en unidad de cuidados intensivos; Oliveros *et al.*, (2015) describen 60% en pacientes de cuidados intensivos; Gómez Gamboa *et al.*, (2014) reportaron 70,7% en unidad de terapia intensiva, 8% medicina interna, 6,6% pediatría, y 4,7% neonatología; Arbizú *et al.*, (2018)

reportan 62% en unidades de cuidados intensivos, 19% cirugía, 14% medicina y 5% de neonatología;; Moreno *et al.*, (2015) reportan en cirugía 34,6% y unidad de cuidados intensivos 29,2%; Falco *et al.*, (2017) en Venezuela reportaron 70% procedentes de terapia intensiva, 13,4% medicina interna, 10% neonatología y otros 6,6%. Si bien es cierto nuestro estudio el servicio con mayor frecuencia de EPC es medicina interna, en varios estudios los servicios de cuidados intensivos son las principales áreas de hospitalarias implicadas, es posible que la presencia de procedimientos invasivos, mayor estancia, terapia antimicrobiana de amplio espectro condicionen una presión selectiva para la aparición de EPC.

Al determinar la frecuencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas según tipo de muestra, se observó principalmente que fueron de origen urinario (29,8%), respiratorio (26,6%), catéter intravascular (13,8%) y herida (11,5%). Nuestros resultados presentan similitud con lo reportado en otros estudios como el de López *et al.*, (2017) en España reporto 82,4% urinario, 4,6% sangre y 3% herida, ulcera y esputo; Ruiz Carrascoso (2016) reporto 37% urinario, 23% sitio quirúrgico, 20,5% endovascular, Respiratorio 12,5%, piel y partes blandas 5,5%, y otros 0,6%; Sacsquispe & Bailón (2018) en Perú reportaron 34% urinario, 19% sangre, 7,2% bronquial, 6% herida, 6% catéter, 3,6% dren, y otras; Pintos *et al.*, (2020) reportaron origen urinario 31,6%, respiratoria 21,1%, piel, sangre 21,1%, abdominal 15,8% y partes blandas 10,5%. En otros estudios se observan diferentes frecuencias según muestra González *et al.*, (2019) reportaron EPC en sangre 29,4%, herida quirúrgica 27,5%, urinario 25,5%, respiratorio 9,8% y otras 7,8%; Gómez-Gamboa *et al.*, (2014) reportaron 42,3% respiratorio, 14,7% sangre, 11,1% herida; Resurrección *et al.*, (2017) reportan 30% respiratorio, 30% urinario, 20% catéter, 10% herida quirúrgica y 10% sangre; Rojo *et al.*, (2018) refiere por localización anatómica 37,5% bacteriemia, 25% urinaria, 12,5% respiratoria, 12,5% abdominal y 12,5% piel; Nastro *et al.*, (2016) reportaron

en sitio quirúrgico 45%, bacteriemia 20% , Respiratoria 17%, urinaria 14%, bacteriemia asociada a catéter 12% y partes blandas 3%; Moreno *et al.*, (2015) reportaron en sitio quirúrgico 22,3%, partes blandas 18,5% y respiratorio 10%; Alvim, Couto, & Gazzinelli, (2019) reportan EPC en sangre 30%, bronquial 27%, orina 22%, tejido 9%, líquido abdominal 9% y catéter 4%; Villegas *et al.*, (2016) en siete países de Latinoamérica reportaron en sangre 20,7%; Han *et al.*, (2020) en China reportaron en esputo 27,5%, sangre 27,1%, orina 17%, secreciones 6,9%, bilis 5%, ascitis 3,2%, catéter 2,8%, drenaje 2,8%, pus 1,4% y otros; Bora *et al.*, (2014) reportaron como más frecuentes en sangre, pus, esputo y orina. Son las complicaciones urinarias junto a las de origen respiratorio, las afecciones más frecuentes en la hospitalización por la estancia, procedimientos invasivos, y otros factores que podrían estar relacionados como la enfermedad base u otro factor de riesgo. Además, es necesario acotar que algunos estudios describen el origen de la muestra como la localización anatómica en la que se presenta una infección (urinaria, respiratoria, sepsis, entre otros), que podría generar alguna imprecisión en la definición.

Para identificar el perfil de resistencia frente a los antimicrobianos en los aislamientos de enterobacterias productoras de carbapenemasas en nuestra investigación se describe la sensibilidad frente a los antimicrobianos que podrían ser útiles para el tratamiento, notándose en *Klebsiella pneumoniae* solo sensibilidad a colistina 99,6%, amikacina 80,2%, doxiciclina 63,2%, y en nitrofurantoina 30%. Las especies de *Proteus sp.* con una baja sensibilidad frente a amikacina 16,1%, doxiciclina 5,6%, gentamicina 3,2% y ciprofloxacino 3,2%. *Escherichia coli* con sensibilidad a colistina 100%, fosfomicina 77,8%, nitrofurantoina 62,5%, amikacina 57,1%, gentamicina 35,7%, cotrimoxazol 15,4% y ciprofloxacino 7,1%. *Enterobacter sp.* con sensibilidad a colistina 100%, amikacina 50%, doxiciclina 42,9%, gentamicina 25%, cotrimoxazol 12,5% y ciprofloxacino 12,5%. Notándose variaciones en la sensibilidad según la especie implicada. En otros estudios se

observan resultados similares como Moreno *et al.*, (2015) que reportan sensibilidad a colistin y tigeciclina en 100% de aislamientos; Rojo *et al.*, (2018) reportan sensibilidad en amikacina 81,2%, tigeciclina 68,7%, piperacilina tazobactam 6,2%, cotrimoxazol 6,2%; Alvim, Couto, & Gazzinelli, (2019) reportaron sensibilidad en *K. pneumoniae* frente a colistina 84%, amikacina 79%, tigeciclina 54%, y gentamicina 52%, *Enterobacter cloacae* colistina 100%, gentamicina 71%, cotrimoxazol 71%, ciprofloxacino 71%, amikacina 43% y tigeciclina 43%; Oliveros *et al.*, (2015) reportan sensibilidad en tigeciclina 75%, gentamicina 56%, colistina 52%, amikacina 48% y ciprofloxacino 27%; Resurrección *et al.*, (2017) reportaron sensibilidad en amikacina 100%; Gómez-Gamboa *et al.*, (2014) reportaron sensibilidad en *K. pneumoniae* a colistina 96,8%, tigeciclina 66,8%, amikacina 33,6 %, cloranfenicol 23,3%, tetraciclina 19%, *Escherichia coli* sensible a colistina 100%, amikacina 77%, tetraciclina 14,3%, ciprofloxacino 14,3%, cotrimoxazol 11,8%, y *Enterobacter* sensibilidad a colistina 100%, amikacina 28,6%, tetraciclina 8,3%, cotrimoxazol 25% y ciprofloxacino 22,2%; González-Rubio *et al.*, (2019) reportaron en aztreonam 62,9%, amikacina 92,4%, tigeciclina 86,5%, fosfomicina 82,2%, colistina 39,8% y ciprofloxacino 38,5%; Caldera y Robles, (2017) reportan sensibilidad a ciprofloxacina 20%, trimetoprim-sulfametoxazol 9%, gentamicina 11%, colistina 94% y cloranfenicol 14%; Han *et al.*, (2020) reportaron sensibilidad en tigeciclina 98,4%, polimixina B 96%, amikacina 50%, cotrimoxazol 45%, gentamicina 32%, ciprofloxacino 19%, y nitrofurantoina 18,8%.

En el análisis de la incidencia de aislamientos de enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) en el Hospital Nacional Hipólito Unanue se encontró variaciones en el tiempo, observándose cambios importantes en cada año durante el todo el periodo de estudio 2014 – 2018, con una incidencia anual de 1,9% en el año 2014, siendo la primera vez que se reportaron aislamientos de EPC. La menor incidencia con 0,7% durante el año

2015, incrementándose el 2016 hasta 5,5%. En el año 2017 la incidencia fue 11,9%, y en el año 2018 se observa la más alta incidencia del estudio con 14,3%. Así se muestra una tendencia al incremento de la incidencia anual durante un periodo de 5 años, estimándose una incidencia promedio del 6.5% del 2014 al 2018. Siendo nuestros resultados concordantes con otros estudios como González *et al.*, (2019) que reportan en España, una incidencia anual de 0,93% el año 2012, 0,66% el 2013, una incidencia anual más alta con 1,18% el 2014, disminuyendo en 2015 a 0,54%; notando en la curva epidémica durante el periodo de estudio dos picos de casos, en el año 2012 y 2014. Castanheira *et al.*, (2019) reportaron en el programa SENTRY durante 20 años de vigilancia (1997-2016) un cambio en la epidemiología de las enterobacterias resistentes a carbapenémicos, aumentando de 0,6% en 1997–2000 hasta 2,9% en 2013–2016 con incrementos progresivos de 0,8% - 0,9% por período del 2005–2008, con tasas que aumentaron 1,5% Estados Unidos, 1,9% Asia-Pacífico y 2,8% Europa; notándose un aumento considerable en países de América Latina, con tasas de EPC de 0,8% a 6,4%; impactando en la resistencia antimicrobiana y la importancia de su continua supervisión.

En América, durante la última década se han identificado Enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) y la transmisión horizontal de genes mediada por elementos genéticos móviles con un papel determinante en la propagación de genes que codifican carbapenemasas. El aumento de la incidencia de EPC explica una diseminación exitosa, siendo incluso endémicos en algunos países. (Escandón *et al.*, 2017). Desde los primeros reportes de EPC en Estados Unidos en 1996 y en Colombia el 2005, se han extendido por casi todos los países de la región. Las carbapenemasas del tipo KPC son las más comunes, y más prevalentes en China, Estados Unidos, Italia y países de América del Sur (Colombia, Argentina, Brasil) (Falco *et al.*, 2017); Las tipo NDM son frecuentes en China, Pakistán, India, Bangladesh y están ampliamente diseminados por todo el mundo;

las tipo IMP son muy frecuentes en Japón, Taiwán y China; Las tipo VIM son muy frecuentes en Grecia; y además el tipo OXA-48, es más prevalente en Turquía, Marruecos y países de Europa (Xiaoyan, Haifang y Hong, 2019).

Gonzales-Escalante *et al.*, (2013) en un estudio trasversal en seis hospitales de referencia de Lima el año 2011 (incluido el Hospital Nacional Hipólito Unanue) reportan por primera vez la presencia de metalo-betalactamasas en el Perú en aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa*, y alertaba a los equipos de vigilancia epidemiológica intrahospitalaria a prevenir su diseminación. La presencia de carbapenemasas en especies de enterobacterias en aislamientos clínicos en el Perú no era conocida hasta el año 2013, siendo la aparición del primer caso, reportado como *K. pneumoniae* productora de carbapenemasas de clase A (KPC) en un hospital de Lima (Velásquez *et al.*, 2013). En nuestro estudio, los primeros casos de EPC aisladas durante el año 2014 correspondieron con el fenotipo de productoras de la metalo-betalactamasa (MBL) procedentes de servicios de cirugía (Garro Nuñez, 2014). No obstante, estos primeros aislamientos detectados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue fueron caracterizados molecularmente como *Proteus mirabilis* productora de carbapenemasa de clase B, de tipo Nueva Delhi Metalobetalactamasa (NDM), siendo confirmada genótipicamente por el Laboratorio de Referencia Regional de la Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud – Carlos G. Malbran de Argentina, como una MBL del tipo NDM-1. En los siguientes años, otras especies de enterobacterias con este fenotipo de resistencia experimentaron un aumento progresivo, con *K. pneumoniae* y *Escherichia coli*, como las más frecuentes en otros servicios como medicina interna y unidad de cuidados intensivos. Desde su aparición, las carbapenemasas en enterobacterias se han incrementado y extendido eficientemente por diferentes hospitales del Perú, sobre todo con una mayor presencia de aislamientos de *Klebsiella pneumoniae*. Siendo las carbapenemasas tipo NDM y KPC las más frecuentes en

el Perú, reportándose casos de transmisión en Lima en los primeros estudios de infecciones por enterobacterias productoras de MBL NDM-1 en hospitales del Perú en series de casos durante el 2016 y 2018 (Resurrección et al., (2017), (Buendia Sotelo, 2020), reportes de caso en provincias de la sierra central y sur (Quispe Pari *et al.*, (2018) y en el norte del país (Sacsquispe y Bailón, 2018), siendo descritos en servicios de hospitalización prolongada como unidades de cuidados intensivos.

Entre las limitaciones del estudio siempre cabe la posibilidad de que exista un sesgo de selección y que los datos no sean representativos a lo encontrado en otras instituciones de atención hospitalaria a nivel local y en otros países, por las variaciones de la incidencia en el tiempo, así los análisis de sensibilidad realizados pueden estar influenciados por este factor. Además, todos los aislamientos fueron caracterizados como productores de metalo carbapenemasas por métodos fenotípicos, siendo solo caracterizado molecularmente solo un grupo que en todos los casos fueron del tipo NDM-1, por lo que no es posible generalizar el genotipo de carbapenemas en todos aislamientos. No obstante, nuestro estudio intenta contribuir con el conocimiento de la situación epidemiológica de las EPC en el Hospital Nacional Hipólito Unanue desde mediados del 2014 al 2018, presentando datos diversos que son posibles por que se incluyeron todos las cepas aisladas de diferentes muestras y procedencias, donde se puede notar como sucede paulatinamente una rápida evolución de la incidencia en comparación a los años anteriores marcándose así su diseminación en los servicios de hospitalización.

VI. CONCLUSIONES

- La incidencia de especies de enterobacterias productoras de carbapenemasas en pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue fue 6,5% durante el periodo 2014 - 2018.
- La mayor frecuencia de especies de enterobacterias productoras de carbapenemasas en pacientes hospitalizados correspondió a *Klebsiella pneumoniae* (77,7%), *Proteus mirabilis* (9,8%), *Escherichia coli* (4,6%) y *Enterobacter sp* (3,9%), menos frecuentes fueron *Providencia rettgeri* (1,3%), *Morganella morgannii* (0,7%), *Providencia stuartii* (0,7%), *Klebsiella oxytoca* (0,3%), *P. vulgaris* (0,3%), *P. alcalifaciens* (0,3%) y *Serratia marcescens* (0,3%).
- El fenotipo de carbapenemasas encontrado en las especies de enterobacterias en nuestro estudio durante el periodo 2014 – 2018, correspondió solo al de tipo metalo- β -lactamasas.
- Las muestras con aislamiento de enterobacterias productoras de carbapenemasas más frecuente fueron: orina 29,8%, bronquial 17%, catéter intravascular 13,8%, herida 11,5%, traqueal 6,6%, sangre 4,6%, líquido pleural 3,3%, esputo 3%, drenaje 3%, líquido abdominal 2%, y menos frecuentes en ulcera, absceso, líquido cefalorraquídeo, fistula, secreción vaginal y tejido.
- El perfil de resistencia antimicrobiana en las enterobacterias productoras de carbapenemasas mostró resistencia a los betalactámicos evaluados. Se observó una menor sensibilidad en antibióticos como amikacina, doxiciclina y nitrofurantoina, según la especie implicada, encontrándose resistencia a colistina en cepas con resistencia intrínseca como *Proteus* y *Serratia* durante el estudio 2014 – 2018.
- Las características demográficas de pacientes hospitalizados con aislamientos de enterobacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Nacional Hipólito

Unanue, 2014 – 2018, muestran un promedio de edad de 53,2 +/- 20,9 años con una tendencia al aumento en la frecuencia con respecto a la edad. Siendo predominante el sexo femenino con 54,4%. La mayor procedencia correspondió de los servicios de medicina interna 35,7%, servicios de cirugía 30,7%, unidad de terapia intensiva 18,6%, y otros fueron menos frecuentes.

- En el Hospital Nacional Hipólito Unanue la incidencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas observada en el año 2014 fue 1,9%, en el año 2015 fue 0,7%, el año 2016 fue 5,5%, el año 2017 fue 11,9% y el año 2018 fue 14,3%; advirtiéndose una clara tendencia al incremento en la incidencia anual durante el periodo de estudio 2014 – 2018.

VII. RECOMENDACIONES

- Es importante realizar vigilancia y estudios continuos de las enterobacterias productoras de carbapenemasas en diferentes ámbitos geográficos para conocer el contexto epidemiológico actual, y prevenir la propagación de bacterias multirresistentes.
- Es necesario detectar precozmente la sospecha de este tipo de resistencia, e implementar metodologías con mayor precisión para el diagnóstico microbiológico por parte de los laboratorios de microbiología clínica en el Perú.
- Para caracterizar el perfil de resistencia se debe contar con un mínimo de 30 aislamientos para obtener un resultado estadísticamente significativo.
- La prevención y el control de las infecciones frente a la resistencia a los antimicrobianos por un equipo multidisciplinario es crítico, permitirá reducir la estancia hospitalaria, la morbilidad, mortalidad, costos de atención; junto al uso racional de antibióticos, métodos diagnósticos rápidos, precisos, y medidas de higiene para prevenir, controlar la adquisición y propagación de EPC.
- Los datos de nuestra investigación pueden contribuir a nuevas perspectivas de investigación, siendo base para nuevas investigaciones que permita comprender este problema de salud pública.
- Realizar informes periódicos de la resistencia a los antimicrobianos al comité de infecciones intrahospitalarios.
- Fortalecer los conocimientos y la importancia de caracterizar los mecanismos de resistencia bacteriana emergentes de importancia en salud pública, y conocer la evolución de la epidemiología molecular.

VIII. REFERENCIAS

- Aguirre Quiñonero, A., & Martínez Martínez, L. (2017). Non-molecular detection of carbapenemases in Enterobacteriaceae. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 23(1), 1-11.
- Alvim, A., Couto, B., & Gazzinelli, A. (2019). Epidemiological profile of healthcare-associated infections caused by Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Rev Esc Enferm USP*, 53, 1-6. doi:<http://dx.doi.org/10.1590/S1980-220X2018001903474>
- Amalfa, F., Erschen, A., Degiuseppe, J., Lucero, C., Rapoport, M., & Ballester, D. (2015). *Emergencia de Enterobacterias productores de OXA-163, una variante de la carbapenemasa OXA-48, en un Hospital General de Agudos*. Obtenido de Antimicrobianos.com.ar: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2015/06/EMERGENCIA-DE-ENTEROBACTERIAS-PRODUCTORES-DE-OXA-163-UNA-VARIANTE-DE-LA.pdf>
- Arbizú Medina, O., García Rosales, K., Cerda Aragón, H., Martínez García, W., Pérez Martínez, A., & Lanzas-Baca, Y. (2018). Nueva Delhi metalo- β -lactamasa en especies de Enterobacteriaceae aisladas de pacientes hospitalizados, Managua, Nicaragua. *Acta méd costarric*, 60(2), 15-18.
- Bonomo, R. A., Burd, E. M., Conly, J., Limbago, B. M., Poirel, L., Segre, J. A., & Westblade, L. F. (2018). Carbapenemase-Producing Organisms: A Global Scourge. *Clinical Infectious Diseases*, 66(8), 1290-97.
- Bora, A., Sanjana, R., Kumar Jha, B., Narayan Mahaseth, S., & Pokharel, K. (2014). Incidence of metallo-beta-lactamase producing clinical isolates of Escherichia coli and Klebsiella. *BMC Research Notes*(7), 557-559.

- Buendia Sotelo, V. M., Morales Gutiérrez, S., Coca Núñez, J., Santos Varas, L., & Soriano Toyama, J. A. (2020). Características clínicas y microbiológicas de infecciones por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa MBL, tipo NDM, Hospital Geriátrico San Isidro Labrador EsSalud, 2018. *Horiz Med*, 20(2), 1-7.
- Caldera Gutiérrez, F. J., & Robles Cortes, D. A. (2017). *Caracterización fenotípica de bacilos gram negativos resistentes a carbapenemes procedentes de la red nicaragüense para la vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos, Nicaragua, enero del 2014 - diciembre del 2016*. [Trabajo monográfico]. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua.
- Cárdenas-Perea M. E., C. y.-R.-H. (2014). Factores de virulencia bacteriana: la “inteligencia” de las bacterias. *Elementos*, 94, 35-43.
- Carrer A, P. L. (Aug de 2008). Spread of OXA-48-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in Istanbul, Turkey. *Antimicrob Agents Chemother*, 52(8), 2950-4.
- Castanheira, M., Deshpande, L., Mathai, D., Bell, J., Jones, R., & Mendes, R. (Mar de 2011). Early dissemination of NDM-1- and OXA-181-producing Enterobacteriaceae in Indian hospitals: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2006-2007. *Antimicrob Agents Chemother*, 55(3), 1274-1278.
- Castanheira, M., Deshpande, L., Mendes, R., Canton, R., Sader, H., & Jones, R. (2019). Variaciones en la aparición de fenotipos de resistencia y genes de carbapenemasas entre aislados de enterobacterias en 20 años del programa de vigilancia antimicrobiana SENTRY. *Open Forum Infect Dis*, 6(Supl.1), S23-S33.
- Cercenado, E. (2015). Detección de enterobacterias productoras de carbapenemasas en la rutina del laboratorio. *Rev Esp Quimioter*, 28((Supl. 1)), 8-11.

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2018). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. *Twenty-Eight Informational Supplement, M100-S28*. Obtenido de <http://em100.edaptivedocs.net/dashboard.aspx>
- Domínguez Calvo A, R. C.-C. (2016). Tipos y mecanismos de resistencia de las enterobacterias productoras de carbapenemasas en un hospital de la comunidad de Madrid. *Rev Clin Esp*, 417.
- Echavarría, G., Guevara Nuñez, D., Bertona, E., De Paulis, A., Predari, S., & Benchetrit, G. (2017). Colonización por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC en un hospital universitario. *Medicina*, 77(2), 105-110.
- Echeverri Toro, L. M., & Cataño Correa, J. C. (2010). *Klebsiella pneumoniae* como patógeno intrahospitalario: epidemiología y resistencia. *Iatreia*, 23(3), 240-249.
- Eckburg, P., Bik, E., Bernstein, C., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., & al., e. (10 de Junio de 2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*, 308(5778), 1635-1638.
- Epidemiología, D. G., & Garro Nuñez, G. (Agosto de 2014). Enterobacterias resistentes a carbapenems, un desafío para la atención hospitalaria. *Bol. Epidemiol. (Lima)*, 23(34), 667-668. Recuperado el 20 de febrero de 2020, de <http://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2014/34.pdf>
- Escandón Vargas, K., Reyes, S., Gutiérrez, S., & Villegas, M. V. (2017). The epidemiology of carbapenemases in Latin America and the Caribbean. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 15(3), 277-297. doi:10.1080/14787210.2017.1268918
- Falco Restrepo AD, A. A. (julio - diciembre de 2015). Resistencia a los antibióticos beta-lactámicos Carbapenems mediada por el gen blaKPC en *Klebsiella pneumoniae*. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 6 (2), 109-118.

- Falco, A., Barrios, Y., Torres, L., Sandrea, L., & Takiff, H. (2017). Epidemiología molecular de aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae*. *Investigación Clínica*, 58(1), 3-21.
- García Vela, S. (2018). *Carbapenamasas. Mecanismos de resistencia y métodos fenotípicos de detección*. [Trabajo de fin de grado]. Universidad de Salamanca, Salamanca. Recuperado el febrero de 2020
- Garzone P, L. J. (Jul-Aug de 1983). Third-generation and investigational cephalosporins: I. Structure-activity relationships and pharmacokinetic review. *Drug intelligence & clinical pharmacy*, 17(7-8), 507-515.
- Glasner C, A. B. (2013). Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: a survey among national experts from 39 countries, February 2013. *Euro Surveill*, 18(28).
- Gómez-Gamboa, L., Perozo-Mena, A., Lugo, J., Bermúdez-González, J., Zabala, I., & Morales, E. (Dic de 2014). Carbapenemasas KPC en Enterobacteriaceae aisladas en un Hospital de Maracaibo, Venezuela. *Kasmera*, 42(2), 89-104.
- Gonzales Escalante, E., Vicente Taboada, W., Champi Merino, R., Soto-Pastrana, J., Flores-Paredes, W., Lovera-García, M., . . . León Sandoval, S. (2013). Metallo- β -lactamasas en aislamientos clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* en Lima, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 30(2), 241-245.
- Gonzales-Zamora, J. (2018). Genes de resistencia a carbapenémicos en enterobacterias: ¿Conocemos realmente la prevalencia de carbapenemasas en Perú? *Rev Peru Med Exp Salud Pública*, 35(4), 707-708.
- González-Rubio, R., Parra Blázquez, D., San Juan Sanz, I., Ruiz-Carrascoso, G., Gallego, S., Escosa-García, L., & Robustillo-Rodela, A. (2019). Evolución de la incidencia de pacientes con colonización e infección por bacterias productoras de carbapenemasas VIM en un hospital pediátrico en España. *Rev Esp Quimioter*, 32(1), 60-67.

- Grundmann H, L. D. (Nov 18 de 2010). Carbapenem-non-susceptible Enterobacteriaceae in Europe: conclusions from a meeting of national experts. . *Euro Surveill*, 15.(46).
- Han, R., Shi, Q., Wu, S., Yin, D., Peng, M., Dong, D., . . . Group, T. C. (2020). Dissemination of Carbapenemases Among Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Isolated From Adult and Children Patients in China. *Front Cell Infect Microbiol*, 10(312), 1-8.
- Hartl R, W. S. (May de 2013). Temocillin and meropenem to discriminate resistance mechanisms leading to decreased carbapenem susceptibility with focus on OXA-48 in Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect.*, 19(5), E230-2. .
- Hawser, S. P., Bouchillon, S. K., Hoban, D. J., & Hackel, M. J. (Oct de 2009). Klebsiella pneumoniae isolates possessing KPC beta-lactamase in Israel, Puerto Rico, Colombia and Greece. *Int J Antimicrob Agents.*, 34(4), 384-5.
- Hernández García, M., Pérez-Viso, B., Turrientes, M. C., Díaz-Agero, C., López-Fresneña, N., Bonten, M., . . . Cantón, R. (2018). Characterization of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from colonized patients in a university hospital in Madrid, Spain, during the R-GNOSIS project depicts increased clonal diversity over time with maintenance of high-risk clones. *J Antimicrob Chemother*, 73(1), 3039-3043.
- Inciensa. (25 de agosto de 2014). *Segundo caso importado de infección por enterobacteria carbapenemasa tipo Metalobactamasa New Delhi (MBL-NDM) positiva en Costa Rica*. Instituto Costarricense de investigación y enseñanza en nutrición y salud. Obtenido de https://www.inciensa.sa.cr/vigilancia_epidemiologica/informes_vigilancia/Otros_PDFs/S

- Ito, H., Arakawa, Y., Ohsuka, S., Wacharotayankun, R., Kato, N., & Ohta, M. (Abril de 1995). Plasmid mediated dissemination of the metallo-beta-lactamase gene blaIMP among clinically isolated strains of *Serratia marcescens*. *Antimicrob Agents Chemother*, 39(4), 824-829.
- Josa, D. F., Bustos, G., Torres, I. C., & Esparza, G. (2018). Evaluación de tres métodos de tamizaje para detección de Enterobacteriaceae productoras de carbapenemasas en hisopados rectales. *Rev Chilena Infectol*, 35(3), 253-261.
- Justo-Quintas, J., Medina-Polo, J., Gil-Moradillo, J., Jaén-Herreros, F., Lara-Isla, A., & Tejido-Sánchez, Á. (2018). Infecciones por enterobacterias productoras de carbapenemasas en un servicio de urología. Un nuevo desafío. *Actas Urológicas Españolas*, 42(3), 170-175.
- Kassis-Chikhani N, D. D. (Jan de 2006). First outbreak of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* carrying blaVIM-1 and blaSHV-5 in a French university hospital. *J Antimicrob Chemother*, 57(1), 142-145.
- Knothe, H., Shah, P., Krcmery, V., Antal, M., & Mitsuhashi, S. (Nov-Dec de 1983). Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection*, 11(6), 315-317.
- López Dosil, M., Bischofberge, C., Sáez, D., & García Picazo, L. (2017). Epidemiología de la diseminación de enterobacterias productoras de carbapenemasas en un hospital comarcal y un hospital de media estancia en Madrid. *Rev Esp Quimioter*, 30(6), 458-463.
- March-Rosselló, G. (2017). Métodos rápidos para la detección de la resistencia bacteriana a antibióticos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 35(3), 182-188.

- Márquez Herrera, K., Rojas Vega, A., & Camacho Moreno, G. (2017). *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa en pediatría. *Rev Latin Infect Pediatr*, 107-115.
- Mediavilla Gradolph, C., Sáinz-Rodríguez, R., Valverde-Troya, M., de Toro Peinado, I., Bermudez-Ruiz, M. P., & Palop-Borrás, B. (2017). Evaluación de un ensayo inmunocromatográfico para la detección de carbapenemasa OXA-48. *Rev Esp Quimioter*, 30(1), 45-49.
- Melgarejo T, M. M. (Julio - Diciembre de 2017). Primer aislamiento de *Salmonella javiana* con portación de KPC-2. *Rev Salud Pública Parag*, 7(2).
- Moellering, R. (1978). Cefamandole a new member of the cephalosporin family. *J Infect Dis.*, 137, (Suppl):S2-S9.
- Moreno, J., Castillo, Y., Delgado, A., Ayala, F., Pinto, A., Lima, M., . . . Castillo, Z. (2015). β -lactamasas de espectro extendido y carbapenemasas en gérmenes gramnegativos aislados de muestras clínicas en los servicios de hospitalización. Unidad de infectología. Hospital Universitario “Dr. Ángel Larralde”. Estado Carabobo 2013. *Bol Venez Infectol*, 26(2), 65-75.
- Moreno-Monge, K. M. (2013). Carbapenémicos: Tipos de mecanismos de resistencia bacterianos. *Rev Med Cost Ric y Cent*, 70(608), 599-605.
- Nastro, M., de Gregorio, S., Rodríguez, H., Farina, J., Focoli, M., Vay, C., & Famiglietti, Á. (2016). Enterobacterias portadoras de KPC en un hospital universitario. *Revista de la Asociación Médica Argentina*, 129(2), 10-12.
- Nicola, F. G., Nieves, J., & Smayevsky, J. (2012). Evaluación de diversos métodos fenotípicos para la detección de carbapenemasas KPC en *Klebsiella pneumoniae*. *Revista Argentina de Microbiología*, 44(1), 290-302.

- Nordmann P, C. G. (Apr de 2009). The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis*, 9(4), 228-36.
- Nordmann, P., Naas, T., & Poirel, L. (Oct de 2011). Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis*, 17(10), 1791-8.
- O'Callaghan CH SR, G. A. (1976). Cefuroxime, a new cephalosporin antibiotic: activity in vitro. *Antimicrob Agents Chemother*, 9(3), 511-519.
- Ocampos Ugarte, J., & Takahasi Alvarez, V. (19 de Agosto de 2015). Enterobacterias productoras de carbapenemasas en pacientes del Servicio de Clínica Médica del Hospital Nacional de Itauguá. *Rev Virtual Soc Parag Med Int*, 2(2), 33-42.
- Oliveros Navarro, A., Uribe, N., Sierra, P., Jaimes, F., & González, J. M. (2015). Bacteriemia por enterobacterias resistentes a carbapenems. Un estudio transversal. *Infectio*, 19(2), 60-66.
- Oteo, J., Calbo, E., Rodríguez-Baño, J., Oliver, A., Hornero, A., Ruiz-Garbajosa, P., . . . del Pozo, J. (2014). La amenaza de las enterobacterias productoras de carbapenemasas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 32(10), 666–670.
- Padilla Serrano, A., Serrano Castañeda, J., Carranza González, R., & García Bonillo, M. (2018). Factores de riesgo de colonización por enterobacterias multirresistentes e impacto clínico. *Rev Esp Quimioter*, 31(3), 257-262.
- Pierce, V., Simner, P., Lonsway, D., Roe-Carpenter, D., Johnson, J., Brasso, W., . . . Limbago, B. (2017). Modified Carbapenem Inactivation Method for Phenotypic Detection of Carbapenemase Production among Enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology*, 2321-2333.
- Pintos Pascual, I., Cantero-Caballero, M., Muñoz Rubio, E., Sánchez-Romero, I., Asensio-Vegas, Á., & Ramos-Martínez, A. (2020). Epidemiología y clínica de las infecciones

- y colonizaciones causadas por enterobacterias productoras de carbapenemasas en un hospital de tercer nivel. *Rev Esp Quimioter*, 33(2), 122-129.
- Pintos Pascual, I., Cantero-Caballero, M., Muñoz Rubio, E., Sánchez-Romero, I., Asensio-Vegas, Á., & Ramos-Martínez, A. (2020). Epidemiología y clínica de las infecciones y colonizaciones causadas por enterobacterias productoras de carbapenemasas en un hospital de tercer nivel. *Rev Esp Quimioter*, 33(2), 122-129. doi:doi:10.37201/req/086.2019. Epub 2020 Mar 9
- Puerta-García, A., & Mateos-Rodríguez, F. (2010). Enterobacterias. *Medicine*, 10(51), 3426-31.
- Quispe Pari, J., Ingaruca Rojas, J., Castro Mucha, A., Castro Ortega, M., Ccoicca Hinojosa, F., Montalvo Otivo, R., . . . Salvador Saguez, F. (2018). Klebsiella pneumoniae productora de carbapenemasas en Perú: reporte de caso y discusión de la resistencia a los antimicrobianos. *Medwave*, 18(2), 1-7.
- Rapoport, M. (2018). *Servicio Antimicrobianos - Laboratorio Nacional de Referencia en Resistencia a los Antimicrobianos*. Recuperado el 30 de Enero de 2019, de <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2018/06/NOVEDADES-CLSI-20181.pdf>
- Resurrección Delgado, C., Montenegro-Idrogo, J., Chiappe-Gonzalez, A., Vargas-Gonzales, R., Cucho-Espinoza, C., Mamani-Condori, D., & Huaroto Valdivia, L. (Abril de 2017). Klebsiella pneumoniae nueva Delhi metalo-betalactamasa en el Hospital Nacional Dos de Mayo: Lima, Perú. *Rev Perú med exp salud pública*, 34(2), 261-267.
- Resurrección Delgado, C., Montenegro-Idrogo, J., Chiappe-Gonzalez, A., Vargas-Gonzales, R., Cucho-Espinoza, C., Mamani-Condori, D., & Huaroto Valdivia, L. (Abril de 2017). Klebsiella pneumoniae nueva Delhi metalo-betalactamasa en el

- Hospital Nacional Dos de Mayo: Lima, Perú. *Rev peru med exp salud publica*, 34(2), 261-267. doi:<http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2017.342.2615>
- Reyes Chacón, J., Villacís-Acuña, J., Villavicencio-Zambrano, F., Tamayo-Trujillo, R., Chicaiza-Alomoto, S., Satán-Salazar, C., . . . Escalante-Vanoni, S. (2017). Inactivación del carbapenémico, un método alternativo para detectar carbapenemasa tipo KPC en Enterobacteriaceae. *Infectio*, 21(4), 251-254.
- Rodríguez Caicedo, G. (2016). *Descripción de casos de infección por Enterobacterias productoras de Carbapenemasas en un periodo de 3 años (2013 a 2015) en un Hospital Universitario de Tercer Nivel*. [Tesis de grado]. Universidad Nacional de Colombia
- Rojo, V., Vázquez, P., Reyes, S., Puente, L., & Cervero, M. (2018). Factores de riesgo y evolución clínica de las infecciones causadas por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas en un hospital universitario de España. Estudio de casos y controles. *Rev Esp Quimioter*, 31(5), 427-434.
- Ruiz Carrascoso, G. (2016). *Características microbiológicas y clínico-epidemiológicas de enterobacterias productoras de carbapenemasa oxa-48 en el contexto de un brote hospitalario*. [Tesis Doctoral]. Universidad Complutense de Madrid.
- Ruiz-Garbajosa, P., Curiao, T., Tato, M., Gijon, D., Pintado, V., & Valverde, A. (Nov de 2013). Multiclonal dispersal of KPC genes following the emergence of non-ST258 KPC producing *Klebsiella pneumoniae* clones in Madrid, Spain. *J Antimicrob Chemother*, 68(11), 2487-2492.
- Sacsquispe Contreras, R., & Bailón Calderón, H. (2018). Identificación de genes de resistencia a carbapenémicos en enterobacterias de hospitales de Perú, 2013-2017. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*, 35(2), 259-264.

- Salamanca Rivera, E. (2017). *Bacteriemias por enterobacterias productoras de carbapenemasas: alternativas terapéuticas*. [Tesis Doctoral]. Universidad de Sevilla, Sevilla.
- Salgado, P., Gilsanz, F., & Maseda, E. (2015). Tratamiento de infecciones causadas por enterobacterias productoras de carbapenemasas. *Rev Esp Quimioter*, 28 (Suppl. 1), 12-15.
- Tamma, P. D., & Simner, P. J. (2018). Phenotypic Detection of Carbapenemase-Producing Organisms. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(11), 1 - 13.
- Tato M, C. T.-G. (Nov de 2007). Complex clonal and plasmid epidemiology in the first outbreak of Enterobacteriaceae infection involving VIM-1 metallo-beta-lactamase in Spain: toward endemicity? *Clin Infect Dis*, 45(9), 1171-1178.
- Van der Zwaluw, K., de Haan, A., Pluister, G., Bootsma, H., de Neeling, A., & Schouls, L. (2015). 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*, 10(3), 1-13.
- Vatopoulos, A. (2008). High rates of metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece--a review of the current evidence. *Euro Surveill*, 13(4).
- Velásquez, J., Hernández, R., Pamo, O., Candiotti, M., Pinedo, Y., Sacsquispe, R., . . . Fernández, N. (2013). *Klebsiella pneumoniae* resistente a los carbapenemes. Primer caso de carbapenemasa tipo KPC en el Perú. *Rev Soc Peru Med Interna*, 26(4), 192-196.
- Vera-Leiva A, B.-L. C.-A.-R. (2017). KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa, principal carbapenemasa en enterobacterias. *Rev Chilena Infectol*, 5(34), 476-484.
- Versalovic J, C. C. (2011). Manual of Clinical Microbiology. *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas and other Enterobacteriaceae*. (10th ed.)

- Villegas, M. V., Pallares, C., Escandón-Vargas, K., Hernández-Gómez, C., Adriana, C., Álvarez, C., . . . Guzmán-Blanco, M. (2016). Characterization and Clinical Impact of Blood stream Infection Caused by Carbapenemase Producing Enterobacteriaceae in Seven Latin American Countries. *PLoS ONE*, *11*(4), 1-13. doi:10.1371/journal.pone.0154092
- Walsh, T. R., Toleman, M. A., Poirel, L., & Nordmann, P. (Apr de 2005). Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev*, *18*(2), 306-25.
- Walsh, T. R., Weeks, J., Livermore, D. M., & Toleman, M. A. (May de 2011). Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. *Lancet Infect Dis.*, *11*(5), 355-62.
- Watanabe M, I. S. (Enero de 1991). Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, *35*(1), 147-151.
- Xiaoyan, C., Haifang, Z., & Hong, D. (2019). Carbapenemases in Enterobacteriaceae: Detection and Antimicrobial Therapy. *Frontiers in Microbiology*, *10*(1), 1-12.
- Yang YJ, W. P. (Mayo de 1990). Biochemical characterization of a betalactamase that hydrolyzes penems and carbapenems from two *Serratia marcescens* isolates. *Antimicrob Agents Chemother*, *34*(5), 755-758.
- Yigit H, Q. A.-S. (April de 2001). Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*, *45*(4), 1151-1161.
- Yong D, T. M. (Dec de 2009). Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 fr. *Antimicrob Agents Chemother*, *53*(12), 5046-5054.

IX. Anexos

Anexo A. Matriz de consistencia

TITULO: “Enterobacterias productoras de carbapenemasas y características demográficas en pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 - 2018”.

Problema	Objetivo	Justificación	Variab les	Indica dores	Metodol ogía
¿Cuál es la incidencia de Enterobacterias productoras de carbapenemasas y características demográficas en aislamientos de pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 - 2018?	<p>OBJETIVO GENERAL</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar la Incidencia de Enterobacterias productoras de carbapenemasas y características demográficas en pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 - 2018. <p>OBJETIVOS ESPECIFICOS</p> <ul style="list-style-type: none"> • Identificar por métodos fenotípicos las enterobacterias productoras de carbapenemasas de aislamientos clínicos de pacientes hospitalizados. • Determinar frecuencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas en pacientes hospitalizados durante el periodo de estudio 2014 – 2018. • Describir las características demográficas de los pacientes hospitalizados con aislamientos de enterobacterias productoras de carbapenemasas en el HNHU. • Determinar la frecuencia de las enterobacterias productoras de carbapenemasas según tipo de muestra, Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 - 2018. • Identificar el perfil de resistencia a los antimicrobianos de la enterobacterias productoras de carbapenemasas, 2014 – 2018. • Describir la incidencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas en el tiempo y establecer su tendencia, 2014 – 2018. 	Se plantea este proyecto de investigación por existir en nuestra institución y en el país escasos estudios que identifiquen las características demográficas y/o epidemiológicas de los aislamientos de enterobacterias productoras de carbapenemasas en pacientes hospitalizados, generando así una línea de base para investigaciones que permitan dar soluciones frente a este problema de salud pública. Nos permitirá conocer su incidencia por periodos de tiempo en una serie de 5 años e identificar las tendencias en los perfiles de antimicrobiano útiles para el tratamiento en este grupo de pacientes.	<p>Incidencia de Enterobacterias</p> <p>Producción de carbapenemasas</p> <p>Edad</p> <p>Sexo</p> <p>Procedencia</p> <p>Tipo de muestra</p> <p>Fecha de muestra</p>	<p>Número de cultivos con aislamiento de Enterobacterias</p> <p>Características fenotípicas: Presente, ausente.</p> <p>Número de años cumplidos. Masculino, Femenino. Comunitario, Hospitalizado. Orina, sangre, catéter, líquidos, secreciones.</p> <p>Día, mes, año según calendario.</p>	<p>Investigación cuantitativa, retrospectiva, diseño de investigación descriptivo, transversal.</p> <p>Muestra 305 unidades durante el periodo de estudio (5 años) que cumplieran criterios de inclusión y de exclusión.</p> <p>Técnicas e instrumentos de recolección de información. Ficha de recolección de datos Los datos se registraron en el programa Whonet 5,6 y Excel.</p>

Anexo B. Ficha de recolección de datos

UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL
FACULTAD DE TECNOLOGIA MÉDICA

Trabajo de investigación:

“Enterobacterias productoras de carbapenemasas y características demográficas en pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 - 2018”.

1. CODIGO:**2. FECHA DE MUESTRA:**/...../.....**3. SEXO:** () Masculino () Femenino**4. EDAD:****5. TIPO DE MUESTRA:****6. PROCEDENCIA:**

- () Hospitalizado.
 () Unidad de terapia intensiva.
 () Consultorio externo.

7. AISLAMIENTO BACTERIANO: () SI () NO

- () *Escherichia coli*
 () *Klebsiella pneumoniae*
 Otro Agente aislado:

8. PRODUCCIÓN DE CARBAPENEMASAS:

- () Positivo.
 () Negativo.
 () Otro mecanismo.....

9. PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Ampicilina		Imipenem		Gentamicina	
Amox/Ac clavulanic		Meropenem		Amikacina	
Cefazolina		Ertapenem		Cloramfenicol	
Cefotaxima		Nitrofurantoina		Doxiciclina	
Ceftazidima		Ciprofloxacino		Colistina	
Cefepime		Sxt/Tmp		Tigeciclina	
Aztreonam		Fosfomicina		Otro:	

10. CONTROL DE CALIDAD DE DATOS. ()

Anexo C. Método de inactivación de la carbapenemasa.

Procedimientos:

1. A partir de una cepa aislada previamente en cultivo en agar Mueller-Hinton e incubadas durante 24 horas a 35°C, se toman colonias con un asa de 10 µL y se resuspende en 400 µL agua destilada estéril.
2. A continuación, se sumerge un disco de Meropenem (MEM) 10µg (Bioanalyse®) dentro de la suspensión. Se incuba durante 2 horas a 35°C.
3. Se retira el disco con pinza estéril para ser colocado sobre una placa de agar Mueller-Hinton previamente sembrada de forma masiva con una cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 en un inoculo con una turbidez de 0,5 de la escala de McFarland.
4. Se incuba a 35°C durante 6 horas.
5. Se interpreta, si hay presencia de halo: negativo para carbapenemasas; si está ausente el halo de inhibición: positivo para carbapenemasas.
6. Como control positivo se utilizaron *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-1705 y *Proteus mirabilis* (productor de NDM-1) como control negativo *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.

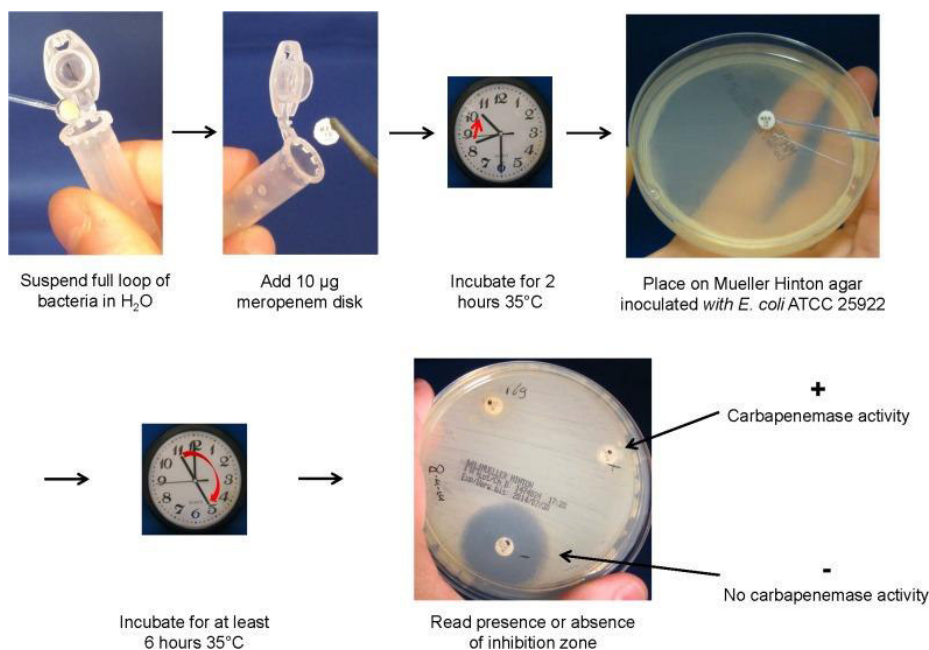
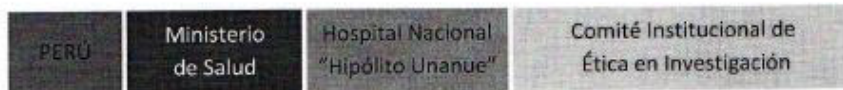


Figura 9. Esquema del método de inactivación de carbapenémicos. Tomado de Kim van der Zwaluw y col. 2015. <https://doi:10.1371>

Anexo D. Carta de aprobación del proyecto de tesis por el comité institucional de ética en investigación Hospital Nacional Hipólito Unanue.



"Año de la Lucha contra la Corrupción y la Impunidad "

CARTA N° 126 - 2019 - CIEI-HNHU

A : **Licenciado ROKY GOVANNI CHAMPI MERINO**
 ASUNTO : **Aprobación de Proyecto de tesis**
 Referencia : Expediente N° 20523
 FECHA : El Agustino, 12 de julio del 2019

Es grato dirigirme a usted, para saludarle cordialmente y dar respuesta al documento de referencia donde el egresado de segunda especialidad en Microbiología, de la Facultad de Tecnología Médica, de la Universidad Nacional Federico Villarreal; quien solicita revisión y aprobación del Proyecto de tesis titulado: **"Enterobacterias productoras de carbapenemasas y características demográficas en pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue 2014 - 2018"**. Para optar el título de segunda especialidad en Microbiología – UPG FTM - UNFV.

El Comité, en sesión ordinaria de fecha miércoles 10 de julio del presente, y según consta en el Libro de actas N° 7, Acordó por unanimidad aprobar el Proyecto de tesis antes mencionado.

Atentamente,

MINISTERIO DE SALUD
 HOSPITAL NACIONAL HIPOLITO UNANUE
 DRA. ANSELICA RICCI YAURIVILCA
 C.M.P. 8482
 Provisoria del Comité de Ética en Investigación.

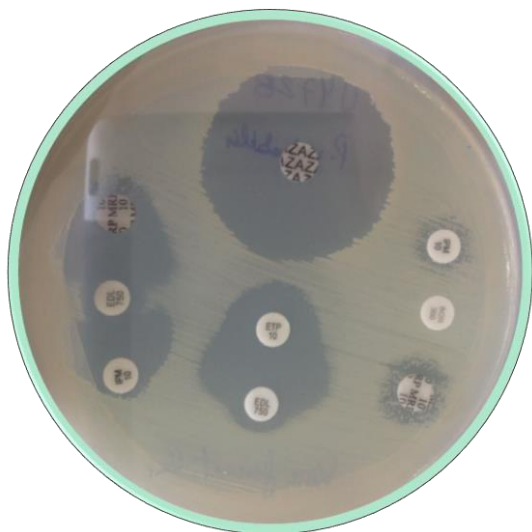
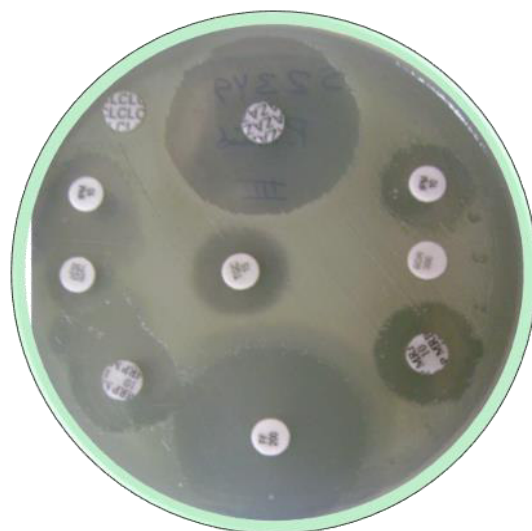
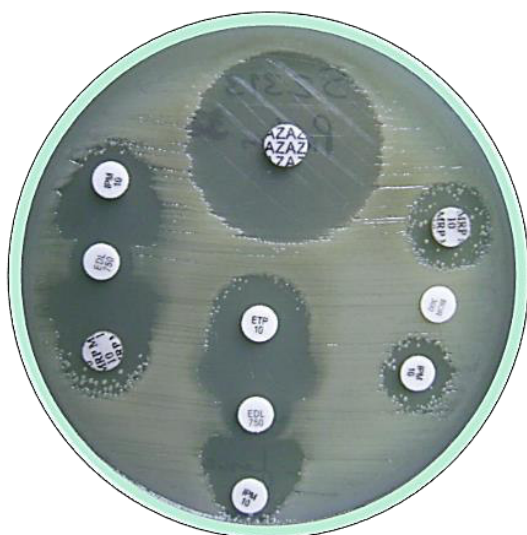
Anexo E. Lista de imágenes de la detección de carbapenemasas en enterobacterias.**Fuente:** *Elaboración de la investigación.***Imagen 1.** *Proteus mirabilis* (u4328), primer aislamiento productor de carbapenemasa. sinergia de Carbapenémicos con EDTA.**Imagen 2.** *Proteus mirabilis* (s2349). sinergia de EDTA y no sinergia de Ácido Borónico.**Imagen 3.** *Proteus mirabilis* (s2313). sinergia de Imipenem, Meropenem y Ertapenem frente a discos con EDTA



Imagen 4. *Klebsiella pneumoniae* (s1762), Método E-Test MBL, IP: Imipenem, IPI: Imipenem más inhibidor (EDTA) de metalocarbenemasas.



Imagen 5. *Klebsiella pneumoniae* (s1762), Método de inactivación de la carbapenemasa.

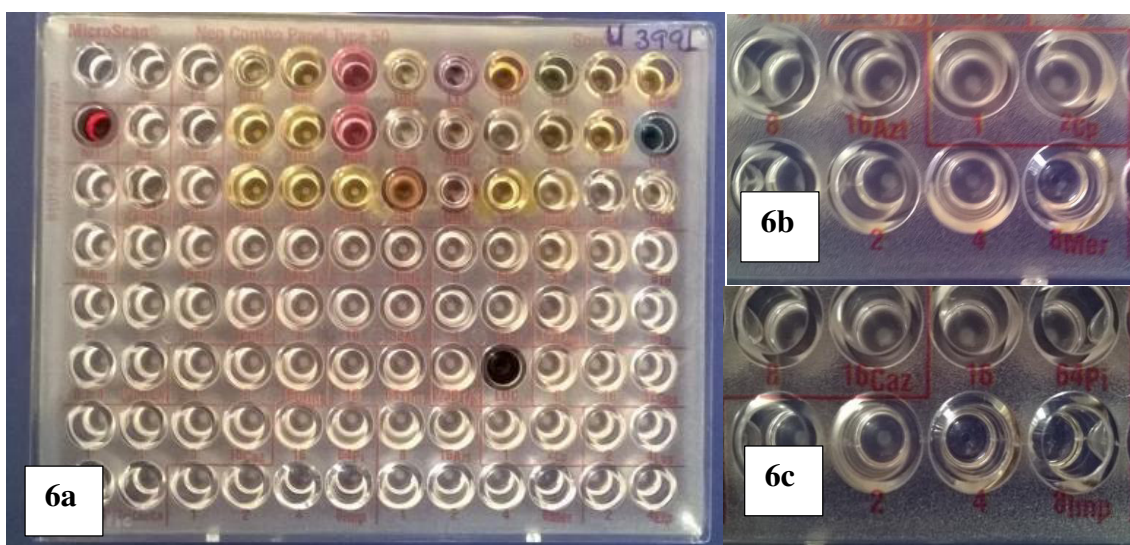


Imagen 2. (6a) *Escherichia coli* (u3991), método de micro dilución en panel Microscan. (6b) A la derecha arriba CIM de Meropenem (4 µg/ml). (6c) derecha abajo CIM de Imipenem (2 µg/ml).

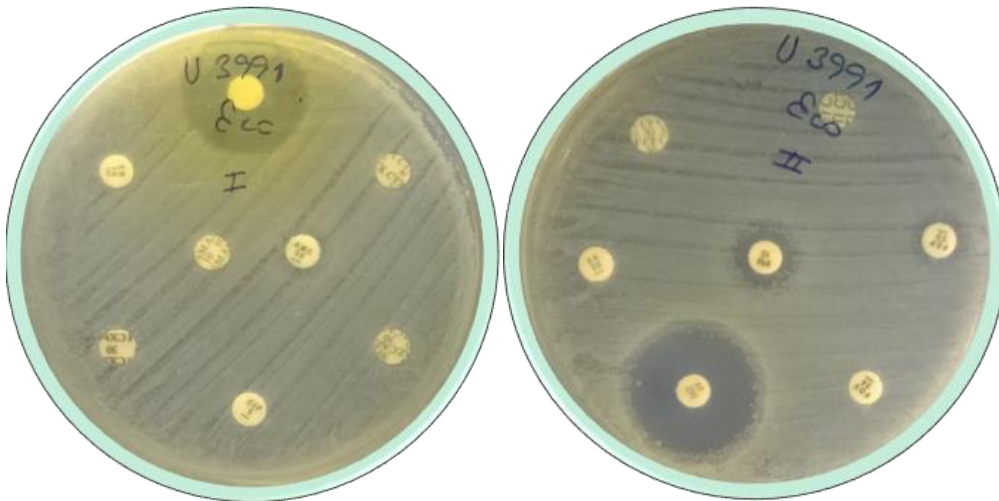


Imagen 3. *Escherichia coli* (u3991), método de disco difusión en agar Muller Hinton.

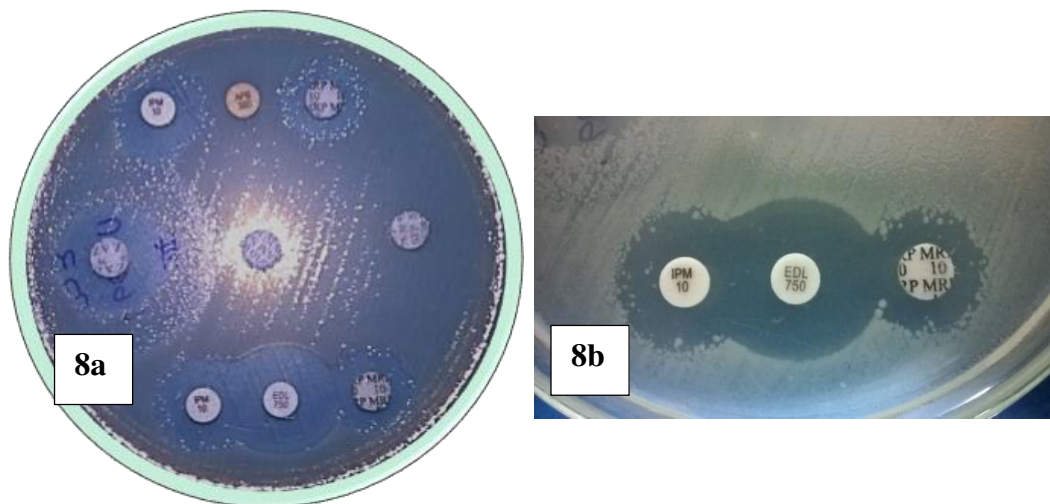


Imagen 4. (8a) *Escherichia coli* (u3991), método de Sinergia con inhibidores de carbapenemasas (EDTA, ácido fenil borónico). (8b) Derecha, en aumento se nota la sinergia de imipenem y meropenem frente a EDTA.

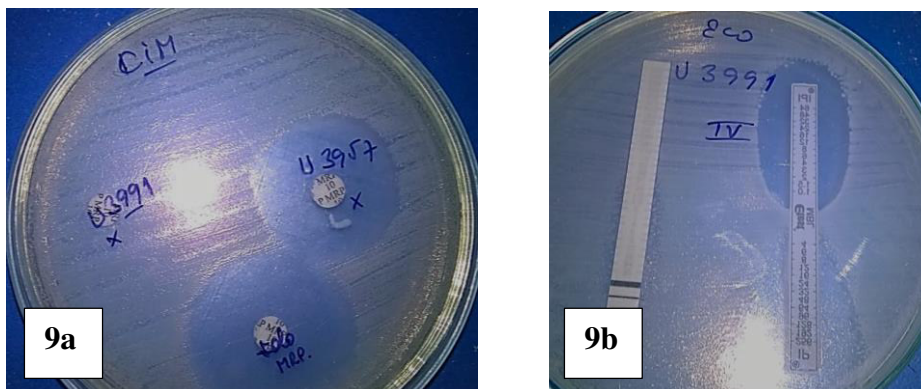


Imagen 5. *Escherichia coli* (u3991). (9a) izquierda, Método de inactivación de la carbapenemasa. (9b) Derecha, detección de carbapenemasas por el método E-Test MBL

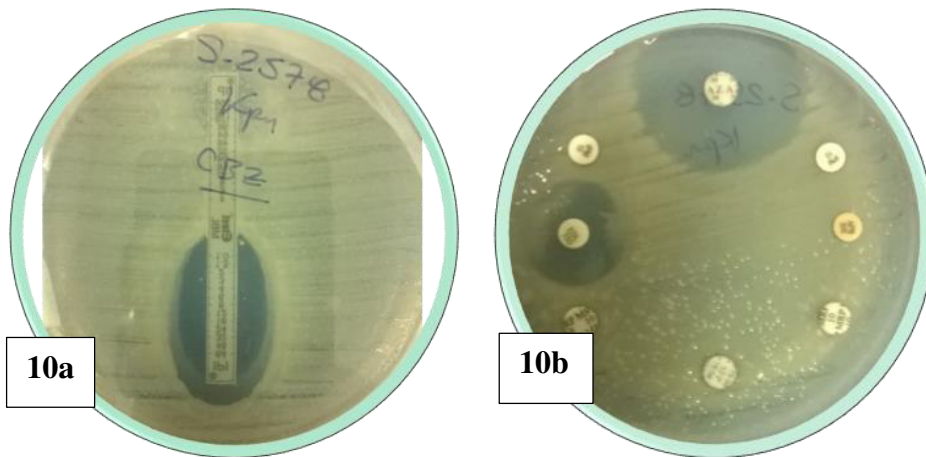


Imagen 6. *Klebsiella pneumoniae* (s2578). (10a) Izquierda, Método E-Test MBL. (10b) Derecha, Sinergia con inhibidor de metalo carbenemasas. (EDTA), sensibilidad de aztreonam.

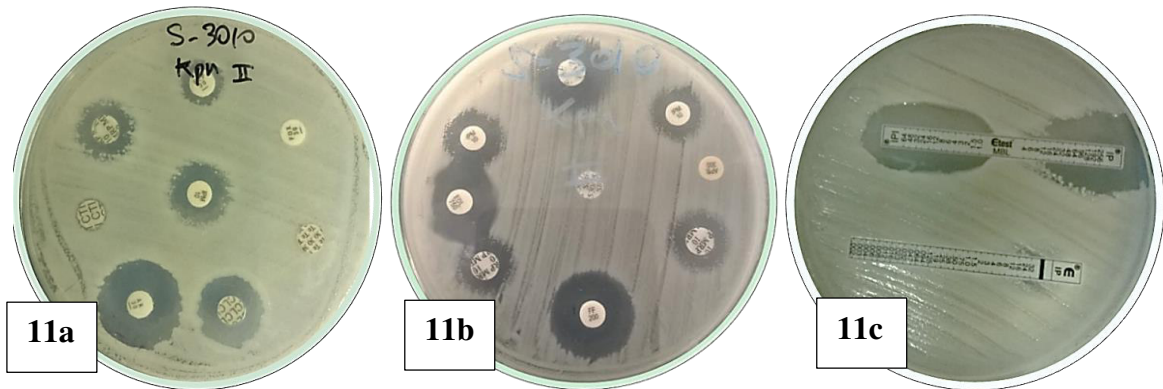


Imagen 7. *Klebsiella pneumoniae* (s3010). (11a) Izquierda: método de disco difusión. (11b) Derecha: método de Sinergia con inhibidores de carbapenemasas. (11c) Abajo Método E-Test MBL, sinergia con Imipenem más EDTA.

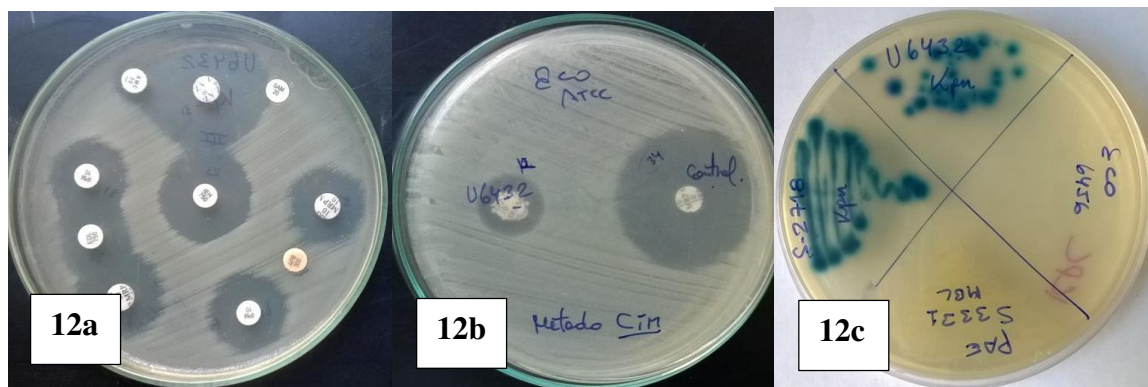


Imagen 8. *Klebsiella pneumoniae* (u6432). (12a) Izquierda, Método de disco difusión. (12b) Centro: Método de inactivación de la carbapenemasa. (12c) Derecha, Método para detección de carbapenemasas en agar cromogénico (Chromagar) .



Imagen 13. *Klebsiella pneumoniae* (s3483), método de disco difusión.



Imagen 14. *Klebsiella pneumoniae* (s3485), semejanza entre fenotipos (s3483 y s3485).

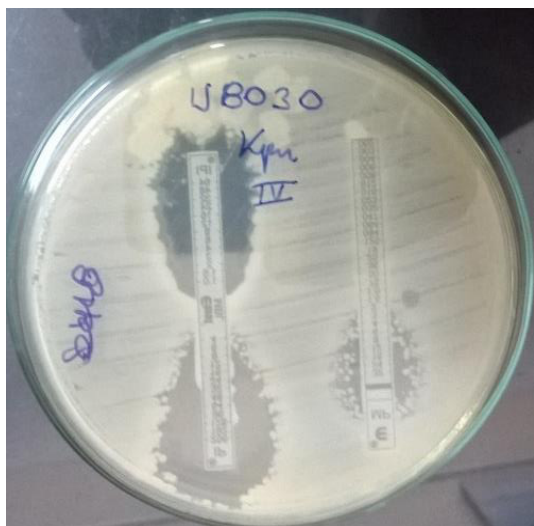


Imagen 15. *Klebsiella pneumoniae* (u8030), método de E-Test MBL.

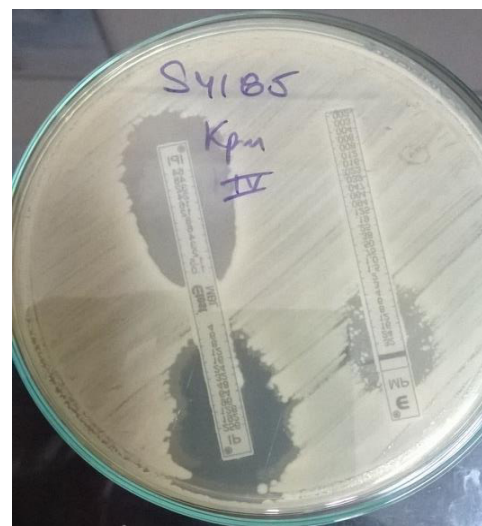


Imagen 9. *K. pneumoniae* (s4185), método de E-Test MBL

Datos del autor

Email : rokycha@yahoo.com

Teléfono: 997600875. Teléfono Trabajo: 362-7777. Anexo 2133 Servicio de Microbiología.

Título: “Enterobacterias productoras de carbapenemasas y características demográficas en pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2014 - 2018”.

Autor: ROKY GOVANNI CHAMPI MERINO

Asesor: Dr. ROBERTO EUGENIO ROJAS LEON

“Para hacer las cosas bien es necesario: primero, el amor; segundo, la técnica”
Antoni Gaudí