



FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

PRUEBA RÁPIDA DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA PARA TAMIZAJE DE
BETALACTAMASAS ESPECTRO EXTENDIDO Y CARBAPENEMASAS EN
ENTEROBACTERIAS EN HEMOCULTIVOS

Línea de investigación:

Microbiología, parasitología e inmunología

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Tecnología Médica en
la especialidad en Laboratorio y Anatomía Patológica

Autora:

Mamani Pariona, Eva Marisol

Asesor:

Guerrero Barrantes, Cesar
(ORCID: 0000-0001-9427-9281)

Jurado:

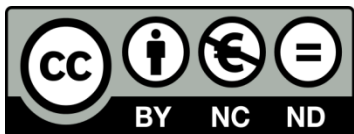
Lazón Mansilla, David
Rojas Hernández, Bertha
Rojas León, Roberto

Lima - Perú

2022

Referencia:

Mamani, E. (2022). *Prueba rápida de sensibilidad antimicrobiana para tamizaje de betalactamasas espectro extendido y carbapenemasas en enterobacterias en hemocultivos*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Federico Villarreal]. Repositorio Institucional UNFV. <https://repositorio.unfv.edu.pe/handle/20.500.13084/6650>



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

PRUEBA RÁPIDA DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA PARA TAMIZAJE DE
BETALACTAMASAS ESPECTRO EXTENDIDO Y CARBAPENEMASAS EN
ENTEROBACTERIAS EN HEMOCULTIVOS

Línea de Investigación: Microbiología, parasitología e inmunología

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Tecnología Médica en la
Especialidad en Laboratorio y Anatomía Patológica

Autora

Mamani Pariona, Eva Marisol

Asesor

Guerrero Barrantes, Cesar

(ORCID: 0000-0001-9427-9281)

Jurados

Lazón Mansilla, David

Rojas Hernández, Bertha

Rojas León, Roberto

Lima- Perú

2022

ÍNDICE

Resumen.....	8
Abstract.....	9
I. Introducción.....	10
1.1 Descripción y formulación del problema.....	11
1.1.1 Descripción del problema.....	11
1.1.2 Formulación del problema.....	14
1.1.3 Pregunta general.....	14
1.1.4 Preguntas específicas.....	14
1.2 Antecedentes.....	15
1.2.1 Antecedentes nacionales.....	15
1.2.2 Antecedentes internacionales.....	17
1.3 Objetivos.....	19
1.3.1 Objetivo general.....	19
1.3.2 Objetivos específicos.....	20
1.4 Justificación.....	20
II. Marco teórico.....	22
2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación.....	22
2.1.1 Hemocultivo.....	22
2.2 Procesamiento del hemocultivo.....	22

2.2.1 Escherichia coli	24
2.2.2 Klebsiella pneumoniae	25
2.2.3 Antibiograma o Test de sensibilidad antimicrobiana	25
2.3 Métodos manuales clásicos.....	26
2.3.1 Identificación bacteriana	28
2.3.2 Mecanismos de Resistencia bacteriana	29
2.3.3 Universidad Estatal de Campinas (UNICAMP).....	32
2.4 Términos básicos.....	32
III. Método.....	34
3.1 Tipo de investigación	34
3.2 Ámbito temporal y espacial	34
3.3 Variables.....	34
3.4 Población y muestra	34
3.4.1 Población	34
3.4.2 Muestra	35
3.4.3 Criterios de inclusión.....	35
3.4.4 Criterios de exclusión.....	35
3.5 Instrumento.....	35
3.6 Procedimientos	35

Técnicas.....	35
3.7 Análisis de datos.....	38
3.8 Consideraciones éticas	39
IV. Resultados.....	40
V. Discusión de resultados	45
VI. Conclusiones.....	49
VII.Recomendaciones	50
VIII.Referencias.....	51
IX. Anexos	58

Lista de tablas

Tabla 1. Puntos de corte para el tamizaje para BLEE en E. coli y K. pneumoniae	37
Tabla 2. Puntos de corte para el tamizaje para Carbapenemasas en E. coli y K. pneumoniae	38
Tabla 3. Incidencia de BLEE en las cepas de Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae.....	41
Tabla 4. Incidencia de carbapenemasas en las cepas de Escherichia coli y Klebsiella	41
Tabla 5. Detección de BLEE a las 4,6 y 8 horas de incubación con RAST	42
Tabla 6. Detección de carbapenemasas a las 6 y 8 horas de incubación con RAST	43

Lista de figuras

- Figura 1. Detección de BLEE a las 4, 6 y 8 horas de incubación en las cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* por RAST en el periodo de mayo-Junio 2019..... 42
- Figura 2. Detección de carbapenemasas a las 6 y 8 horas de incubación en las cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* por RAST en el periodo de mayo-Junio 2019... 44

Lista de anexos

Anexo A. Operacionalización de las variables	58
Anexo B. Ficha de recolección de datos	59
Anexo C. Permiso del laboratorio UNICAMP y uso de datos	60
Anexo D. Fuentes de financiamiento	62
Anexo E. Matriz de consistencia	63

RESUMEN

El reporte de resultados de los mecanismos de resistencia ante un cuadro de bacteriemia es una de las funciones más importantes del laboratorio clínico de microbiología. Ante ello, la “*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*” (EUCAST) ha propuesto la Prueba Rápida de Sensibilidad Antimicrobiana (RAST), que brinda el tamizaje de detección de mecanismos de resistencias a los antimicrobianos en menos de 8 horas. En esta investigación, se evaluó el rendimiento del método RAST en el tamizaje para betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas en enterobacterias en hemocultivos del complejo hospitalario de la Universidad Estatal de Campinas de Brasil (UNICAMP). Se incluyeron un total de 82 aislamientos, de los cuales 34 fueron cepas de *Escherichia coli* y 48 cepas de *Klebsiella pneumoniae*. Para el método RAST, la producción de BLEE se detectó de acuerdo con los puntos de corte de EUCAST a las 4, 6 y 8 horas de lectura y para la producción de carbapenemasas, a las 6 y 8 horas de lectura. Para el tamizaje de BLEE se presentó una concordancia aceptable de 0.92, 0.95 y 0.92 para 4, 6 y 8 horas de lectura, respectivamente. Por otro lado, para el tamizaje de carbapenemasas se presentó una concordancia aceptable de 0.80 y 0.75 para 6 y 8 horas de lectura, respectivamente. Se concluyó que el método RAST proporciona resultados fiables y útiles en menor tiempo que sirven para la orientación de la terapia antimicrobiana adecuada para pacientes con bacteriemia.

Palabras clave: Hemocultivo, RAST, EUCAST, BLEE, carbapenemasas.

ABSTRACT

Reporting the results of the resistance mechanisms in the face of bacteremia is one of the most important functions of the clinical microbiology laboratory. Given this, the "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing" (EUCAST) has proposed the Rapid Antimicrobial Sensitivity Test (RAST), which provides screening for antimicrobial resistance mechanisms in less than 8 hours. In this research, the performance of the RAST method in screening for extended spectrum beta-lactamases (ESBL) and carbapenemases in enterobacteria was evaluated in blood cultures of the hospital complex of the State University of Campinas of Brazil (UNICAMP). A total of 82 isolates were included, of which 34 were *Escherichia coli* strains and 48 *Klebsiella pneumoniae* strains. For the RAST method, ESBL production was detected according to the EUCAST cutoff points at 4, 6 and 8 hours of reading and for the production of carbapenemases, at 6 and 8 hours of reading. For ESBL screening, an acceptable agreement of 0.92, 0.95 and 0.92 was presented for 4, 6 and 8 hours of reading, respectively. On the other hand, for the carbapenemases screening, an acceptable concordance of 0.80 and 0.75 was presented for 6 and 8 hours of reading, respectively. It was concluded that the RAST method provides reliable and useful results in less time that serve to guide the appropriate antimicrobial therapy for patients with bacteremia.

Keywords: Blood culture, RAST, EUCAST, ESBL, carbapenemases.

I. INTRODUCCIÓN

El incremento de la resistencia a los antibióticos es un desafío permanente para la Organización Mundial de la Salud (OMS). La presencia de estos perfiles de resistencia a los medicamentos conlleva a la reducción de opciones terapéuticas y aumento en la estancia hospitalaria del paciente con bacteriemias y sepsis. Se ha reportado entre los mecanismos más prevalentes los casos de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas en las cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* (Kang et al., 2004; Ortega et al., 2009). Ante ello, reducir el tiempo de detección de los mecanismos de resistencia permite una administración adecuada y eficaz de los medicamentos.

El método más utilizado, en los laboratorios de microbiología clínica, para identificar estos mecanismos de resistencia es el antibiograma (ATB) por disco difusión (DD) (Bauer et al., 1966). Este método es simple, de bajo costo, reproducible y preciso que permite evaluar varios antibióticos al mismo tiempo. Los datos “*in vitro*” que se obtienen son fundamentales para la elección y el curso del tratamiento. En la rutina, el ATB por DD requiere al menos 2 días para reproducir resultados después de que el hemocultivo indique como positivo, tiempo en el cual se administra la terapia empírica al paciente en base al organismo sospechoso causal y la epidemiología local.

Se han realizado muchos estudios sobre la evaluación de protocolos rápidos de detección de mecanismos de resistencia directos del frasco de hemocultivo. En dichos estudios no se utilizaron documentos internacionales estandarizados específicos, por lo que no se han implementado en la mayoría de los laboratorios clínicos (Cuellar-Rodríguez et al., 2009; Pasteran et al., 2015). Ante ello la “*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*” (EUCAST) desarrolló la prueba rápida de susceptibilidad antimicrobiana (RAST) para la

detección de los mecanismos de resistencia BLEE y carbapenemasas con la finalidad de reducir el tiempo de respuesta (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2019). Esta prueba se basa en la metodología DD estándar EUCAST pero con inóculo directo de frascos de hemocultivos positivos y tiempo de incubación de 4,6 y 8 horas. La prueba de tamizaje está validada para las siguientes bacterias *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, debido a que son las bacterias aisladas con mayor frecuencia de los frascos de hemocultivos. Por ello, este trabajo evaluó el rendimiento de la prueba RAST en el tamizaje de detección de BLEE y carbapenemasas después de 4, 6 y 8 h de incubación de hemocultivos positivos a cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en pacientes del hospital UNICAMP en Brasil.

1.1 Descripción y formulación del problema

1.1.1 Descripción del problema

Las bacteriemias son infecciones hospitalarias frecuentes cuyas tasas de mortalidad y morbilidad oscilan entre 13.6 y 38% (Ibrahim et al., 2000). En estos casos, los patógenos frecuentemente implicados son muchas veces resistentes a los agentes antimicrobianos (Organización Mundial de la Salud, 2020). Un ejemplo de ello, son las cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* que presentan mecanismos de resistencia como las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas (Kang et al., 2004; Ortega et al., 2009).

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas producidas por microorganismos los cuales confieren resistencia los antibióticos betalactámicos excepto a las cefamicinas y a los carbapenémicos (Tumbarello et al., 2006). En Latinoamérica se han informado frecuencias entre 14 (Mosqueda et al., 2008), y 45% (Winokur y Canton, 2001), de cepas BLEE en bacteriemias causadas por *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, valores por

encima de lo que se ha descrito en otras regiones, ello podría deberse al uso poco racional de las cefalosporinas y a tratamientos empíricos inadecuados.

Por otro lado, la resistencia a los carbapenémicos son una verdadera amenaza a la salud pública, pues reportan una alta mortalidad que varía entre el 18 y el 60% en pacientes con bacteriemia (Oliveros et al., 2015).

La presencia de estos perfiles de resistencia a los medicamentos conllevan a la reducción de opciones terapéuticas y aumento en la estancia hospitalaria del paciente por lo tanto, se convierten en un problema de salud pública global (Schneeweiss et al., 2001). Ante ello, reducir el tiempo de detección del perfil de resistencia a los medicamentos que posee el agente etiológico del hemocultivo positivo permite una administración oportuna, adecuada y eficaz de los medicamentos (Battle et al., 2017; Shorr et al., 2008).

En la actualidad, en la rutina clínica, para la detección de mecanismos de resistencia en el antibiograma se basan en métodos genotípicos y fenotípicos los cuales pueden ser manuales o automatizados (Battle et al., 2017; Kumar et al., 2006). Los métodos genotípicos prueban genes de resistencia específicos, pero estos pueden ser costosos. Entre los métodos fenotípicos incluyen aproximación de discos, prueba de discos combinados con inhibidor, tiras con un gradiente de antibiótico (E-TEST BLEE) y microdilución en sistemas comercializados (March y Bratos, 2016). Las normas de interpretación de estos métodos están publicados por la “*Clinical and Laboratory Standards Institute*” (CLSI) y el “*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*” (EUCAST). Todas estas técnicas requieren a la bacteria aislada; y un lapso mínimo de procesamiento de 9 a 48 horas con los métodos automatizados y manuales, respectivamente (Eigner et al., 2005).

Por ello se han realizado muchos estudios sobre la evaluación de protocolos rápidos para la detección de fenotipos de resistencia, directos del frasco de hemocultivo. Dentro de pruebas rápidas para BLEE tenemos a la prueba de sinergia de discos que consiste en situar en el medio de cultivo un disco con amoxicilina-ácido clavulánico cerca de discos betalactámicos indicadores. La producción de BLEE se demuestra por la ampliación del halo de inhibición de cualquiera de los indicadores por la acción del ácido clavulánico (Cuellar-Rodríguez et al., 2009). Para la detección de carbapenemasas, la prueba de Blue Carba revela la presencia de este mecanismo por medio de un indicador de pH a las 2 horas (Pasteran et al., 2015). Sin embargo, en estos estudios no se utilizaron documentos internacionales estandarizados, por lo que no se han implementado en la mayoría de los laboratorios clínicos (Barnini et al., 2016; Cuellar-Rodríguez et al., 2009; Doern et al., 1981; Goel et al., 2015; Pasteran et al., 2015).

Recientemente, EUCAST validó la prueba rápida de susceptibilidad antimicrobiana (RAST) utilizando DD de Kirby Bauer directamente a partir de frascos de hemocultivos positivos y el tiempo de incubación se reduce a 4, 6 y/o 8 horas para la lectura e interpretación. La prueba tiene el potencial de acortar el tiempo de obtención del perfil de susceptibilidad de bacterias de mayor incidencia en las bacteriemias y para antibióticos de gran importancia en el tratamiento clínico (EUCAST, 2019). Además se puede detectar mecanismos de resistencia mediante el tamizaje para BLEE y carbapenemasas en *E. coli* y *K. pneumoniae* para fines de control epidemiológico y clínico (EUCAST, 2019). Esta prueba es mucho menos costosa en comparación con la implementación de nuevas tecnologías. Por lo tanto, existe la posibilidad de implementar esta prueba en laboratorios estándar sin la necesidad de nuevos equipos.

En este contexto, el Perú ha mostrado un crecimiento exponencial de la presencia de mecanismos de resistencia hacia los antibióticos (Lupo et al., 2012). Ante ello, es una necesidad

realizar investigaciones que involucren la búsqueda de protocolos microbiológicos rápidos y eficaces. Debido a esto, este estudio realizado en el hospital de la Universidad Estatal de Campinas (UNICAMP) en el 2019 busca dar solución a los tópicos señalados y ser uno de los primeros antecedentes para futuros protocolos.

1.1.2 Formulación del problema

La oportuna detección de los mecanismos de resistencia del agente etiológico es relevante en las bacteriemias para la aplicación de un tratamiento adecuado. Por lo que es importante la implementación de métodos rápidos para la detección de los mecanismos de resistencia. El método RAST se presenta como una alternativa ante este problema, el cual es un método simple y rápido de rutina en laboratorio.

1.1.3 Pregunta general

¿Cuál es el rendimiento de la prueba rápida de susceptibilidad antimicrobiana (RAST) en el tamizaje de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en hemocultivos del hospital de la Universidad Estatal de Campinas (UNICAMP) de Brasil en el 2019?

1.1.4 Preguntas específicas

¿Cuál es la sensibilidad y especificidad de la prueba RAST en el tamizaje de BLEE en *E. coli* y *K. pneumoniae* a las 4, 6 y 8 horas de lectura en el hospital de la UNICAMP en el 2019?

¿Cuál es la sensibilidad y especificidad de la prueba RAST en el tamizaje de carbapenemasas en *E. coli* y *K. pneumoniae* a las 6 y 8 horas de lectura en el hospital de la UNICAMP en el 2019?

¿Cuál es la concordancia entre el tamizaje de BLEE en *E. coli* y *K. pneumoniae* a las 4, 6 y 8 horas de lectura de la prueba RAST y el método convencional en el hospital de la UNICAMP en el 2019?

¿Cuál es la concordancia entre el tamizaje de carbapenemasas en *E. coli* y *K. pneumoniae* a las 6 y 8 horas de lectura de la prueba RAST y el método convencional en el hospital de la UNICAMP en el 2019?

¿Cuáles son los tiempos de respuesta de detección de BLEE y carbapenemasas por RAST con los métodos convencionales en *E. coli* y *K. pneumoniae* aisladas de hemocultivos del hospital de la UNICAMP en el 2019?

1.2 Antecedentes

1.2.1 Antecedentes nacionales

Aguilar (2018). Prevalencia y sensibilidad antibiótica, en los hemocultivos procesados en adultos del Hospital III ESSALUD Iquitos de diciembre 2014 a marzo 2015. Se revisaron los hemocultivos de pacientes adultos que se atendieron en el Hospital III ESSALUD Iquitos en el periodo diciembre 2014 a marzo 2015. Se procesaron 169 hemocultivos de los cuales 42 (24.9%) fueron positivos y 127 (75.1%) negativos. El grupo etario donde se encontró más casos fue de 58 a 70 años (33.3%), el servicio con más aislamientos fue UCI con 15 casos (5,7%), la bacteria que se aisló más en el sexo femenino fue *Staphylococcus epidermidis* (19.0%), en el sexo masculino fue la *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* y *Staphylococcus hominis*. El presente estudio observó que para gram positivos la vancomicina fue 100% susceptible y 100% resistente a penicilina. Para los Gram negativos se encontró 80% de sensibilidad a piperacilina/ tazobactam y Tigeciclina.

Falconí et al. (2018). Frecuencia y factores de riesgo para bacteriemia por enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en pacientes de un hospital público de lima, Perú. Se clasificaron a los pacientes según la bacteria aislada (productora o no de BLEE). Del total, se determinó que el 50,6 % de las bacteriemias fueron causadas por enterobacterias productoras de BLEE. Sumado a ello, no hallaron diferencias con relación a comorbilidades y ni uso previo de antibióticos. Concluyeron que la mitad de las bacteriemias por enterobacterias en pacientes hospitalizados son producidas por enterobacterias productoras de BLEE.

Vicente (2015) Bacterias aisladas con mayor frecuencia y perfil de resistencia antibiótica en cultivos y antibiogramas de muestras procedentes de la unidad de cuidados intensivos –clínica. Se realizó un estudio descriptivo y retrospectivo basado en la revisión de resultados positivos de cultivo y antibiograma de muestras procedentes de la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) de la Clínica Arequipa. Se estudiaron 62 resultados de cultivos positivos y sus antibiogramas, en las que se encontró que las bacterias más frecuentes fueron: *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, con 25.8% de frecuencia cada una, seguidas por *Staphylococcus aureus* (24.2%) y *Klebsiella pneumoniae* (9.7%). El perfil de resistencia que presentó *Pseudomonas aeruginosa* fue prácticamente a todos los antibióticos. *Escherichia coli* mostró resistencia principalmente a betalactámicos (excepto carbapenémicos) y a cotrimoxazol. Se encontraron 5 (31.3%) cepas formadoras de BLEE. *Staphylococcus aureus* mostró resistencia a betalactámicos, se encontraron 10 (66.7%) cepas resistentes a la meticilina. *Klebsiella pneumoniae* mostró resistencia principalmente a betalactámicos (excepto carbapenémicos), se hallaron 3 (50%) cepas formadoras de BLEE.

Se concluyó que las bacterias más frecuentemente aisladas en la UCI fueron: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*.

Los perfiles de resistencia de estas bacterias fueron: *Pseudomonas aeruginosa*, resistente prácticamente a todos los antibióticos evaluados, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* mostraron resistencia principalmente a betalactámicos (excepto Carbapenémicos) y a cotrimoxazol, *Staphylococcus aureus* mostró resistencia a betalactámicos.

Adrianzén et al. (2013) Mortalidad por bacteriemia causada por *Escherichia coli* y *Klebsiella sp.* productoras de betalactamasas de espectro extendido: cohorte retrospectiva en un hospital de Lima, Perú. Se evaluaron los factores asociados a la mortalidad causada por bacteriemias por *Escherichia coli* y *Klebsiella sp.* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Se encontró que el 35,3% de las bacteriemias fueron debidas a cepas productoras de BLEE. El análisis de la mortalidad cruda mostró una mayor mortalidad en el grupo de cepas productoras de BLEE (63,3%). Se concluyó que la producción de BLEE es un factor de riesgo independiente para mortalidad por bacteriemia causada por *E. coli* y *Klebsiella sp.* Se recomendó que su presencia debe evaluarse tras la sospecha diagnóstica y la elaboración de la terapéutica inicial, lo que podría disminuir la mortalidad.

1.2.2 Antecedentes internacionales

Jonasson et al. (2020). The EUCAST rapid disc diffusion method for antimicrobial susceptibility testing directly from positive blood culture bottles. Las botellas de hemocultivo se enriquecieron con aislamientos clínicos (n = 332) de los siete patógenos de sepsis más relevantes con una variedad de mecanismos de resistencia. RAST se realizó directamente desde la botella y las zonas se leyeron después de 4, 6 y 8 h. Se investigaron varias variables, incluido el efecto del uso de diferentes botellas de hemocultivo y un retraso de 0-18 h entre una señal positiva y el rendimiento RAST. Para cinco especies, la mayoría de las zonas de inhibición podrían leerse después de 4 h. La proporción de resultados que podrían ser interpretados aumentó del 75% a las

4 h al 84% después de 8 h. Acuerdo categórico contra el método de referencia fue bueno, con tasas de error de falsa susceptibilidad de 0.2%, 0.2% y 0.2% a las 4, 6 y 8 h y falsa resistencia de 1.2%, 0.2% y 0.1% a las 4, 6 y 8 h, respectivamente.

Evaluation of EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from blood culture bottles. Este estudio evaluó la prueba rápida de susceptibilidad antimicrobiana (RAST) de EUCAST de hemocultivos para organismos gramnegativos. Se incluyeron un total de 194 aislamientos, de los cuales se analizaron 68 *Escherichia coli*, 47 *Klebsiella pneumoniae* y 33 *Pseudomonas aeruginosa*. Para aquellos con resultados interpretables, utilizando los puntos de corte definidos por CLSI M52 para la equivalencia en las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana ($VME \leq 1,5\%$, $ME \leq 3,0\%$, $CA \geq 90\%$), RAST se consideró equivalente a Vitek 2 para todos los tiempos de lectura para los siguientes fármacos: *E. coli* (meropenem, gentamicina y amikacina); *K. pneumoniae* (ceftazidima, ciprofloxacina y gentamicina); y *P. aeruginosa* (gentamicina). La mediana del tiempo de respuesta hasta la disponibilidad de los resultados de Vitek fue de 19,58 h para *E. coli* (IQR: 17,38-21,38 h), 19,43 h para *K. pneumoniae* (IQR: 17,72-20,67 h) y 23,3 h para *P. aeruginosa* (IQR: 21,32 –24,35 h). Concluyeron que RAST acorta el tiempo de respuesta a los resultados (Soo et al., 2020).

Rapid detection of ESBL-producing gram-negative bacteria isolated from blood: a reasonable and reliable tool for middle and low resource countries.

Se compararon simultáneamente la prueba directa y rápida (PDR) diseñada para detectar bacilos gramnegativos (BGN) productores de betalactamasas de espectro extendido (BGN BLEE) directamente de los frascos de hemocultivo positivos, con dos métodos convencionales: el método de DD y el por microdilución y E-test (MIC/ET). Se desarrolló la PDR con un inóculo de 0.2 mL de cada frasco de hemocultivo; se sembró en agar

Mueller-Hinton; se agregaron discos de ceftazidima y cefotaxima, con y sin ácido clavulánico y se incubó a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Se identificaron 124 BGN de 114 episodios de bacteriemia, 10 de ellos (8.8%) polimicrobianos; 79 (63.7%) de los BGN fueron enterobacterias, 44 (35.5%) BGN no fermentadores de glucosa y un *Haemophilus influenzae*. El microorganismo más frecuente fue *Escherichia coli* en 56 episodios (45.2%), seguido por *Pseudomonas aeruginosa* en 24 (19.3%) y *Klebsiella pneumoniae* en 13 (10.5%). De los 114 episodios de bacteriemia, 41 (36%) tuvieron al menos un BGN resistente a cefalosporinas de tercera generación y 25 (21.9%) fueron ocasionados por un BGN BLEE. La PDR tuvo sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de 96%, 98.9%, 96% y 98.9%, respectivamente. El índice de concordancia entre PDR y SC DDA fue de 0.95 y entre PDR y MIC/ET de 0.92. La mediana de tiempo para detectar un BGN BLEE a partir de la señal positiva de hemocultivos fue de 1.02 ± 0.19 días con PDR y de 3.40 ± 0.59 días con cualquiera de los otros métodos. La diferencia en el reporte del resultado positivo de una BGN BLEE fue de 2.38 ± 0.63 días ($p < 0.0001$). Concluyeron que la PDR fue rápida, confiable, de fácil ejecución y de costo menor que los métodos estándar (Cuellar-Rodríguez et al., 2009, p. 1).

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Evaluar el rendimiento de la prueba rápida de susceptibilidad antimicrobiana (RAST) en el tamizaje para betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en hemocultivos del hospital de la Universidad Estatal de Campinas (UNICAMP) de Brasil en el año 2019.

1.3.2 Objetivos específicos

Determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba RAST en el tamizaje de BLEE en *E. coli* y *K. pneumoniae* a las 4, 6 y 8 horas de lectura en el hospital de la UNICAMP en el 2019.

Determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba RAST en el tamizaje de carbapenemasas en *E. coli* y *K. pneumoniae* a las 6 y 8 horas de lectura en el hospital de la UNICAMP en el 2019.

Indicar la concordancia entre el tamizaje de BLEE en *E. coli* y *K. pneumoniae* a las 4, 6 y 8 horas de lectura de la prueba RAST y el método convencional en el hospital de la UNICAMP en el 2019.

Indicar la concordancia entre el tamizaje de carbapenemasas en *E. coli* y *K. pneumoniae* a las 6 y 8 horas de lectura de la prueba RAST y método convencional en el hospital de la UNICAMP en el 2019.

Comparar el tiempo de respuesta de detección de BLEE y carbapenemasas por RAST con los métodos convencionales en *E. coli* y *K. pneumoniae* aisladas de hemocultivos del hospital de la UNICAMP en el 2019.

1.4 Justificación

Actualmente, existe la necesidad de la implementación de protocolos rápidos para la detección de los mecanismos de resistencia bacteriana. Los mecanismos de resistencia que repercuten altamente en la tasa de mortalidad en los pacientes bacteriémicos son las BLEE y carbapenemasas. Por ello, actualmente, los laboratorios están en búsqueda de un método que reduzca el tiempo de la detección del mecanismo de resistencia del agente etiológico.

Actualmente se emplean varios métodos manuales o automatizados como alternativa para la obtención de la prueba de sensibilidad antimicrobiana. Sin embargo, estas tecnologías son dependientes del aislamiento primario lo que hace tardío el tiempo de respuesta.

Ante ello, diversos protocolos rápidos de antibiograma directos del frasco de hemocultivo se han descrito, sin embargo, no se basan en documentos internacionales estandarizados, por lo que no se han implementado en la mayoría de los laboratorios clínicos.

Este estudio se realizó en el complejo hospitalario de la UNICAMP donde una de las complicaciones nosocomiales más frecuentes son las bacteriemias resistentes a los medicamentos la cual, se traduce en la prolongación de estancias hospitalarias, elevación de costos en el tratamiento y aumento de la tasa de mortalidad.

Por ello, con este estudio se evaluará el desempeño del tamizaje para la detección de BLEE y carbapenemasas del método RAST de EUCAST, cuyos costos y tiempos de procesamiento son reducidos por lo que facilitaría su implementación en los laboratorios de microbiología.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1 Hemocultivo

Es el cultivo de la sangre que se inocula en frascos que contienen medios de crecimiento microbiano. Ello permite determinar si el microorganismo causante de la infección está presente en el torrente sanguíneo del paciente (Rodríguez et al., 2017).

Es el principal método microbiológico de diagnóstico para determinar la etiología de una bacteriemia. Su realización lo hace accesible a cualquier centro y es el único método que hasta el momento permite el aislamiento del microorganismo viable para determinar su perfil de sensibilidad. Su practicidad en el diagnóstico es menoscabada por la demora en la obtención de resultados y porque su rendimiento es más bajo en pacientes con tratamiento antibiótico o si la infección se produce por hongos, por bacterias de crecimiento lento o por aquellas con requerimientos especiales de crecimiento. Otro factor limitante es la elevada cantidad de hemocultivos contaminados por microorganismos pertenecientes al microbiota de la piel; este proceso genera errores diagnósticos, tratamientos inadecuados y ocasiona un elevado gasto económico para el sistema sanitario (Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica [SEIMC], 2011, p. 8).

“La sensibilidad de los hemocultivos tiene una fuerte concordancia con el volumen de la muestra, el momento de la extracción y la ausencia de tratamientos antibióticos previos” (SEIMC, 2011, p. 8).

2.2 Procesamiento del hemocultivo

Procesamiento manual. Es un método simple que se basa en la observación macroscópica de los signos de crecimiento de una pareja de frascos positivos con medio de cultivo líquido. Los medios de cultivo de hemocultivo llevan incorporado un anticoagulante, la mayoría SPS (polianetol sulfonato sódico) a una concentración del 0,006 al 0,050%, que inhibe la actividad bactericida del suero humano y puede dificultar el crecimiento de algunos microorganismos como *Neisseria spp.* (Fernández et al., 2003, p. 5).

“La temperatura de incubación oscila entre los 35° y 37°C, temperatura que se aproxima a la temperatura corporal y que demuestra un mayor aislamiento de microorganismos durante un período más corto” (Fernández et al., 2003, p. 5).

La mayoría de los potenciales patógenos responsables de bacteriemia se aísla en los hemocultivos entre las 18 y 72 horas siguientes del inicio de su incubación. Los frascos se observan diariamente para detectar signos visibles de crecimiento bacteriano como el enturbiamiento del medio, la hemólisis de los hematíes, la producción de gas o la formación de colonias en el fondo del frasco. No obstante, sólo se detecta crecimiento macroscópico a partir de 10^7 UFC/ml (Fernández et al., 2003, p. 5).

El problema de la detección macroscópica, además del retraso, estriba en la presencia de falsos positivos y falsos negativos. Hay causas ajenas al crecimiento bacteriano que pueden enturbiar el medio o hemolizar a los hematíes y, por el contrario, hay microorganismos que pueden crecer sin producir ningún signo macroscópico de crecimiento. Ello obliga a complementar la visualización macroscópica con la tinción Gram. Con ella pueden visualizarse microorganismos cuando su concentración se aproxima a los 10^5 UFC/ml. A los 7 días de incubación, justo antes de desechar los frascos como negativos, se realiza un subcultivo ciego. El examen microscópico de los

hemocultivos sin signos de crecimiento ha demostrado ser de poco valor (Fernández et al., 2003, p. 6).

Procesamiento automatizado: Bactec (Becton Dickinson). Sistema automatizado de monitorización y agitación continua, que se compone de una incubadora, un sensor y un ordenador. El metabolismo de la bacteria produce CO₂ el cual, reacciona con un material fluorescente, situado en el fondo del frasco del hemocultivo, y emite la luz que es absorbida por un sensor. El sensor mide el nivel de fluorescencia, que corresponde con la cantidad de CO₂ producido por la bacteria. Este sistema realiza una lectura de todos los frascos cada 10 minutos y mediante una alarma luminosa indica los frascos positivos detectados en cada lectura (Fernández et al., 2003, p. 7).

Procesamiento del hemocultivo positivo. La muestra debe ser inoculada en medios de agar sangre, agar chocolate y agar sangre enriquecido y se incuban a 35-37°C en períodos de tiempo (24 h el agar sangre y el agar chocolate, y 48-72 h el agar sangre enriquecido en anaerobiosis y en diferentes atmósferas (aerobia, con 5% de CO₂ y anaerobia, respectivamente). Teniendo en cuenta la morfología de los microorganismos observada en la tinción Gram se deben realizar, además, subcultivos en medios específicos, por ejemplo, en agar Sabouraud si se observan levaduras, e incubar a diferentes temperaturas, 30°C en caso de sospecha de hongos (Fernández et al., 2003, p. 7).

2.2.1 Escherichia coli

Es la especie bacteriana recuperada con mayor frecuencia en los laboratorios clínicos y ha sido involucrada en enfermedades infecciosas que afectan casi a cualquier tejido y sistema orgánico humano. También es frecuentemente incriminada como agente microbiológico de la sepsis y shock inducido por endotoxinas (Koneman et al., 2008).

“Es un bacilo gramnegativo, no exigente, oxidasa negativo, catalasa positivo, anaerobio facultativo, cuya temperatura de crecimiento se da a 37 °C, fimbriado y comúnmente es móvil por los flagelos peritricos” (Koneman et al., 2008, p. 1).

2.2.2 *Klebsiella pneumoniae*

Especie bacteriana que se recupera en mayor frecuencia en muestras clínicas y puede producir una forma clásica de neumonía primaria. También puede causar distintas infecciones extrapulmonares, como enteritis, meningitis, infecciones urinarias y septicemia.

Son bacterias gram negativas, la asimilación y la fermentación de la lactosa se puede observar en el agar MacConkey donde las colonias son de color rosado y en el medio Kligler o TSI donde son Ácido/Ácido, es decir fermentador de la lactosa y productor de gas; y son positivos en la fermentación acetónica o prueba de Voges Proskauer. Por último, sus condiciones óptimas de cultivo son en agar nutritivo a 37 °C a pH 7.0 (Koneman et al., 2008).

2.2.3 *Antibiograma o Test de sensibilidad antimicrobiana*

Los antibiogramas (ATB) o test de sensibilidad antimicrobiana son pruebas “*in vitro*” que tienen como objetivo detectar las posibles resistencias a los antimicrobianos de patógenos comunes y asegurar la susceptibilidad a los antimicrobianos de elección.

El ATB por microdilución en caldo es el método de referencia con el que se comparan para el desarrollo, la verificación y la validación de todos los demás métodos de ATB. En la actualidad, el ATB se logra utilizando métodos manuales clásicos o sistemas automatizados dependientes del crecimiento y aislamiento del microorganismo, como Becton Dickinson Phoenix, Sensititre ARIS 2X o BioMérieux Vitek 2, todos los cuales se basan en pruebas de microdilución en caldo (Herrera, 1999).

2.3 Métodos manuales clásicos

Método de dilución en caldo. Uno de los primeros métodos de prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos fue el método de dilución en caldo. Este procedimiento implicó la preparación de diluciones dobles de antibióticos (p. Ej., 1, 2, 4, 8 y 16 $\mu\text{g} / \text{ml}$) en un medio de crecimiento líquido dispensado en tubos de ensayo. Los tubos que contienen antibióticos se inocularon con una suspensión bacteriana estandarizada de $1-5 \times 10^5 \text{UFC} / \text{ml}$. Tras la incubación durante la noche a 35°C , se examinan los tubos en busca de crecimiento bacteriano visible como lo demuestra la turbidez. La concentración más baja de antibiótico que impedía el crecimiento representaba la concentración inhibitoria mínima (MIC) (Herrera, 1999).

Método de microdilución en caldo. Basado en el método de dilución en caldo es realizado en pequeñas placas de microdilución de plástico. Las placas estándar contienen 96 pocillos, cada uno con un volumen de 0.1 ml que permite analizar aproximadamente 12 antibióticos en un rango de 8 diluciones dobles en una sola placa. Después de la incubación, los MIC se determinan utilizando un dispositivo de visualización manual o automatizado para la inspección de cada uno de los pozos en busca de crecimiento (Ericsson y Sherris, 1971).

Método de disco difusión. El método de susceptibilidad de disco es práctico y ha sido bien estandarizado. La prueba se realiza aplicando un inóculo bacteriano de aproximadamente $1-2 \times 10^8 \text{UFC} / \text{ml}$ a la superficie de una placa de agar Mueller-Hinton de 150 mm de diámetro. Se colocan hasta 12 discos de antibióticos de papel de una concentración fija en la superficie de agar tapizada con el inóculo bacteriano. Las placas se incuban durante 16-24 h a 35°C para la lectura de resultados. El diámetro de la zona de inhibición está relacionado con la susceptibilidad del aislado y con la velocidad de difusión del fármaco a través del medio de agar (Bauer et al., 1966).

Los diámetros de zona de cada medicamento se interpretan utilizando los puntos de corte establecidos por comités internacionales de test de sensibilidad antimicrobiana, como CLSI “*The Clinical & Laboratory Standards Institute*” o EUCAST “*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*”(Bauer et al., 1966).

Método de gradiente antimicrobiano (E-test). Consiste en una tira de plástico (tira de E-test) que incorpora un gradiente definido del antimicrobiano equivalente a 15 diluciones. Siguiendo el protocolo de disco difusión, una vez inoculado la placa de agar con el microorganismo, se coloca la tira de E-test sobre su superficie, produciéndose de forma inmediata una difusión del antibiótico, generándose a lo largo de la tira un gradiente exponencial de las concentraciones del antimicrobiano. Tras la incubación de las placas, se puede observar una zona de inhibición elipsoidal y simétrica y el valor de la MIC será el valor donde la elipse corta la tira (Jorgensen y Ferraro, 2009, p. 1749).

Métodos automatizados. El uso de estos métodos puede estandarizar la lectura de los valores de inhibición y producir resultados de pruebas de susceptibilidad en un período más corto que las lecturas manuales. Se describen sólo uno de estos métodos (Richter y Ferraro, 2011).

El sistema automatizado BD Phoenix (BD Diagnostics). Este sistema tiene un gran lector de incubadoras con capacidad para procesar 99 paneles de prueba que contienen 84 pocillos dedicados a diluciones de duplicación de antibióticos y se inoculan manualmente. El BD Phoenix monitorea cada panel cada 20 minutos usando detección de crecimiento turbidimétrico y colorimétrico (indicador de oxidación-reducción). Se encuentran disponibles paneles de prueba para gram negativos, gram positivos, *S. pneumoniae*, β -hemolíticos y para estreptococos del grupo viridans. Los resultados del MIC se generan en 6-16 h. Permite detectar mecanismos de

resistencia fenotípica como BLEE o la resistencia inducible a clindamicina (Richter y Ferraro, 2011).

Prueba RAST. La prueba RAST de EUCAST está basada en la metodología de disco difusión estándar de EUCAST, pero con la diferencia que reduce el tiempo para la obtención de resultados del ATB. El tiempo de incubación es de 4, 6 y/o 8 horas, el inóculo es directo del caldo del frasco de hemocultivo y presenta instrucciones de lectura modificadas y específicas para los puntos de cortes RAST. Actualmente la prueba está validada para *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *A. Baumannii*, *E. faecalis*, *E. faecium* y *S. pneumoniae* y para un panel limitado de antimicrobianos. Con esta prueba, además de obtener el perfil de susceptibilidad antimicrobiana, se puede detectar mecanismos de resistencia mediante el tamizaje de BLEE y carbapenemasas para *E. coli* y *K. pneumoniae*.

La detección de producción de BLEE, según EUCAST, se realiza mediante la determinación de puntos de corte de los halos de inhibición de generados por los antibióticos cefotaxime y ceftazidima a las 4, 6 y/u 8 horas. Para la determinación de la presencia de carbapenemasas, se realiza mediante la determinación de los puntos de corte de los halos de inhibición del disco de meropenem emitidos a las 6 y 8 horas (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases [ESCMID], 2019).

2.3.1 Identificación bacteriana

Para realizar la identificación a nivel de especie, los métodos más comunes son los que se basan fenotípicamente. Cada género bacteriano presenta una expresión proteica específica, lo que permite diferenciarlos entre ellos. Dentro de los métodos fenotípicos están los métodos bioquímicos, los medios cromogénicos y la espectrometría de masas. La identificación de patógenos bacterianos ha evolucionado con la introducción de la espectrometría de masas,

específicamente del MALDI-TOF MS, y este es ahora el método de elección para la identificación bacteriana en muchos de los laboratorios clínicos desarrollados (Váradi et al., 2017).

Espectrometría MALDI-TOF MS. MALDI-TOF MS se basa en la rápida ionización de las proteínas ribosómicas de bacterias / levaduras utilizando un pulso láser, directamente de colonias cultivadas o pellets celulares de la muestra clínica. La masa calculada de los iones es el espectro de muestra específica de la especie del microorganismo (Váradi et al., 2017).

2.3.2 Mecanismos de Resistencia bacteriana

La resistencia bacteriana es la capacidad de un microorganismo de resistir los efectos de un antibiótico. La resistencia se produce por selección natural, como producto de mutaciones ocurridas al azar, o se puede inducir mediante la aplicación de presión selectiva a una población de microorganismos producido por un tratamiento prolongado del antimicrobiano (Organización Panamericana de la Salud, 2019, párr. 3).

“Los mecanismos de resistencia bacteriana son variados, destacando las enzimas hidrolíticas que hidrolizan al antimicrobiano las cuales, destruyen su acción antibacteriana, sin tener posibilidad de actuar sobre el microorganismo” (Tafur et al., 2008, p. 227).

Betalactamasas. Los genes bacterianos que codifican estas enzimas pueden encontrarse en el cromosoma o en plásmidos y pueden producirse de manera constitutiva o inducible.

De todas las betalactamasas, destacan por su interés e implicaciones clínicas las betalactamasas de espectro extendido (enzimas tipo TEM, SHV, CTX-M y OXA), las betalactamasas resistentes a los inhibidores (enzimas tipo TEM y SHV), las betalactamasas tipo AmpC (enzimas tipo LAT, MIR, CMY y FOX) y las carbapenemasas (enzimas tipo VIM IMP, IMI, KPC, NDM y OXA) (Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 2011). En esta sección solo describiremos a las enzimas tipo BLEE y carbapenemasas.

Betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Estas enzimas tienen capacidad de hidrolizar y causar resistencia a penicilinas, oximino-cefalosporinas (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima) y monobactámicos (aztreonam), pero no a cefamicinas (cefotaxina) ni a carbapenémicos (imipenem, meropenem y ertapenem). (SEIMC, 2011, p. 5).

Las técnicas para la detección fenotípica de BLEE se basan en que estas enzimas pueden ser inhibidas por el ácido clavulánico y utilizan como indicadores cefalosporinas de tercera y cuarta generación y aztreonam.

La prueba de sinergia de doble disco. “Consiste en situar un disco con amoxicilina-ácido clavulánico próximo a discos de indicadores betalactámicos. La producción de BLEE se demuestra por la ampliación del halo de inhibición de cualquiera de los indicadores por la acción del ácido clavulánico” (SEIMC, 2011, p. 44).

La prueba de discos combinados con inhibidor. Este método consiste en comparar los halos de inhibición de una cefalosporina de tercera o cuarta generación sola y con ácido clavulánico incorporado en los discos. La potenciación de la inhibición de la cefalosporina en presencia de ácido clavulánico indica la producción de BLEE (SEIMC, 2011, p. 38).

La prueba de E test BLEE. Se fundamenta en el mismo. El Etest BLEE presenta en un extremo un gradiente de concentración de cefotaxima, ceftazidima o cefepima y en el otro un gradiente de la cefalosporina con una concentración fija de ácido clavulánico similar al principio de la prueba de discos combinados, pero en este caso se comparan los valores de MIC (SEIMC, 2011).

Carbapenemasas. En los últimos años se ha producido una gran alarma y preocupación por la gran propagación de los bacilos gramnegativos productores de betalactamasas

capaces de hidrolizar a los carbapenémicos. Ello se traduce en sensibilidad disminuida o resistencia a cefalosporinas de tercera generación y carbapenémicos (SEIMC, 2011, p. 14).

Los procedimientos de detección son aplicables a aislados de la familia *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* y otros bacilos gramnegativos que presenten un patrón fenotípico compatible con la producción de carbapenemasas.

El test de Hodge modificado es la técnica que el CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) recomienda para la detección fenotípica de carbapenemasas. El fundamento de esta técnica se basa en la inactivación de los carbapenémicos por la cepa productora de carbapenemasas permite el crecimiento de un microorganismo indicador sensible a los lados de una estría efectuada con la cepa productora, en una placa con un carbapenémico. Esta técnica permite detectar la producción de carbapenemasas, pero no proporciona información sobre la clase de enzimas. Para ello se utilizan las técnicas de sinergia de doble disco, discos combinados con inhibidor y E test MBL que se basan en la potenciación de la actividad de los carbapenémicos en presencia de inhibidores de carbapenemasas. Como por ejemplo, para la detección de carbapenemasas de clase A, el inhibidor utilizado es el ácido borónico y para la detección de carbapenemasas de clase B los inhibidores son el ácido dipicolínico o EDTA (SEIMC, 2011, p. 14).

Prueba Blue-Carba (BCT). “Prueba fenotípica para la detección rápida en menos de 2 horas de carbapenemasas en bacilos gramnegativos directamente de cultivos bacterianos” (Pires et al., 2013, 4281).

Se basa en la hidrólisis bacteriana “*in vitro*” del imipenem, que se detecta por cambios de pH revelados por el indicador azul de bromotimol (azul a verde / amarillo o verde a

amarillo). Esta prueba es 100% sensible y específica para *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas spp.* y *Acinetobacter spp.* (Pires et al., 2013, 4281).

2.3.3 Universidad Estatal de Campinas (UNICAMP)

Es una de las universidades públicas del estado de São Paulo, Brasil. Fundada en 1962 e instalada en 1966, la UNICAMP tuvo como misión inicial promover la ciencia y tecnología en el polo industrial en la provincia del estado de São Paulo (Universidade Estadual de Campinas, 1994, p. 1).

El laboratorio clínico de microbiología realiza 32 pruebas diagnósticas diferentes, destacando las pruebas de identificación y antibiograma de microorganismos (bacterias, micobacterias y hongos). Tiene una producción mensual de aproximadamente 11 300 pruebas por mes, con el 40% de los análisis realizados por automatización. La sección de hemocultivos procesa mensualmente aproximadamente 2000 hemocultivos de pacientes ambulatorios y hospitalizados de los cuales, un 10% son positivos.

2.4 Términos básicos

- *Escherichia coli*: Es la especie bacteriana involucrada en enfermedades infecciosas que afectan casi a cualquier tejido y sistema orgánico humano.
- Hemocultivo: Es el principal examen microbiológico de diagnóstico para determinar la etiología de una bacteriemia.
- *Klebsiella pneumoniae*: Especie bacteriana que se recupera en mayor frecuencia en muestras clínicas y que puede producir una forma clásica de neumonía primaria, enteritis, meningitis, infecciones urinarias y septicemia.

- Antibiograma (ATB): prueba “*in vitro*” que tiene como objetivo detectar las posibles resistencias a los antimicrobianos de patógenos comunes y asegurar la susceptibilidad a los antimicrobianos de elección para infecciones particulares.
- EUCAST: “*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*”, Comité Europeo de Test de Susceptibilidad Antimicrobiana.
- RAST: “*Rapid antimicrobial susceptibility testing*”, test de susceptibilidad antimicrobiana rápida basado en la metodología de disco difusión estándar de EUCAST.
- BLEE: Las betalactamasas de espectro extendido es una enzima producida por algunas bacterias y es responsable de la resistencia ante la acción de antibióticos betalactámicos como las penicilinas, las cefalosporinas, incluyendo las de tercera y cuarta generación.
- Carbapenemasas: betalactamasas que hidrolizan carbapenémicos, antibióticos de último recurso frente a bacterias multirresistentes.
- Concentración mínima inhibitoria (MIC): Concentración más baja de un agente antimicrobiano en la que no se produce un crecimiento visible.

III. MÉTODO

3.1 Tipo de investigación

Estudio tipo descriptivo, prospectivo y de corte transversal.

3.2 Ámbito temporal y espacial

El siguiente proyecto se ejecutó en dos etapas:

La parte experimental se realizó en el Laboratorio de Microbiología del Hospital de la UNICAMP de Brasil en los meses de mayo a junio del 2019. El análisis de datos se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigación y Desarrollo de la Universidad Peruana Cayetano Heredia en el año 2021.

3.3 Variables

Ver anexo A.

- Comparación del rendimiento del tamizaje RAST con los métodos convencionales
- Tamizaje para BLEE y carbapenemasas por la Prueba RAST

3.4 Población y muestra

3.4.1 Población

Hemocultivos positivos de pacientes del complejo hospitalario de la UNICAMP de Brasil del periodo de mayo-junio 2019.

3.4.2 Muestra

Para este estudio, se recolectaron 171 hemocultivos positivos monomicrobianos, del complejo hospitalario de la UNICAMP recolectados en el periodo de mayo-junio del 2019. Del total se obtuvieron 82 hemocultivos positivos monomicrobianos que cumplen con los criterios de inclusión y exclusión de los cuales, 34 fueron positivos para *Escherichia coli* y 48 para *Klebsiella pneumoniae*.

3.4.3 Criterios de inclusión

Frascos de hemocultivo monomicrobianos positivos para *Escherichia coli*.

Frascos de hemocultivo monomicrobianos positivos para *Klebsiella pneumoniae*.

3.4.4 Criterios de exclusión

Frascos de hemocultivos positivos que contengan otros líquidos biológicos (líquido ascítico, líquido pleural o líquido cefalorraquídeo).

Frascos de hemocultivos positivos polimicrobianos.

Frascos de hemocultivos positivos para bacterias diferentes de *E. coli* y *K. pneumoniae*.

3.5 Instrumento

El instrumento utilizado es el formato de recolección de datos la cual fue diseñado a partir de un trabajo piloto (ver anexo B).

3.6 Procedimientos

3.6.1 Técnicas

Toma de muestra de hemocultivos. Las muestras de sangre para hemocultivo se extrajeron mediante venopunción (extracción de vena periférica), evitándose la extracción a partir de dispositivos intravasculares, cambiando de equipo y localización anatómica en la extracción de cada hemocultivo.

Al seleccionar el lugar de la punción se desinfectó la piel con clorhexidina y se dejó actuar. Se realizó la punción y se extrajo la cantidad de sangre necesaria para que se puedan añadir 10 ml de sangre en cada frasco en el caso de los adultos y entre 1 y 5 ml para el frasco pediátrico. Luego se agitó suavemente los dos frascos y finalmente se enviaron al Servicio de Microbiología para ser incubados en el equipo BD BACTEC™ FX hasta el momento de su positividad. (Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 2017, p. 13)

Identificación bacteriana. La identificación de microorganismos se realizó convencionalmente mediante la tinción Gram y la metodología automatizada por el equipo MALDI Biotyper a partir de la bacteria aislada.

Control de calidad. El control de calidad (QC) se realizó como se indica en el documento de la metodología RAST. La cepa de control analizada fue *E. coli* ATCC 25922, y su procesamiento se repitió 2 veces a lo largo de los experimentos (al principio y a la mitad del estudio).

Tamizaje para BLEE y carbapenemasas por RAST. La prueba rápida de susceptibilidad antimicrobiana se realizó como se indica en el documento de metodología de la versión 1.1 de EUCAST.

Inoculación de placas de agar directamente de frascos de hemocultivo. Se tomó 125 ± 25 μ l de hemocultivo positivo en cada placa de agar Mueller-Hinton (MH) de 90 mm extendiendo el

caldo suavemente sobre la superficie del agar en tres direcciones usando un rotor de placa automático para luego aplicar los discos de antibióticos.

Se incubaron las placas según el organismo: *Escherichia coli*, y *Klebsiella pneumoniae* (tiempo de incubación de 4,6 y 8 horas en promedio MH a 35 ± 1 ° C). Se leyeron las zonas de inhibición dentro de ± 5 minutos del tiempo de lectura establecido. Las placas con más de 8 horas de incubación no se leyeron. Solo se dio la lectura de las zonas de inhibición de las placas que tenían un crecimiento confluyente y bordes visiblemente notables.

La lectura para la detección de BLEE y carbapenemasas se realizó como se indica en el documento de metodología de la versión 1.0 de EUCAST.

Se leyeron las placas MH manualmente desde el frente de la placa con la cubierta retirada, la luz reflejada y contra un fondo oscuro. Se sostuvo la placa a unos 30 cm del ojo en un ángulo de 45 grados. Se inclinó la placa para identificar los bordes definidos. Se midieron los diámetros de la zona de inhibición al milímetro más cercano. Se utilizaron las tablas de corte específica para la prueba tamiz del método RAST, como se muestra a continuación:

Tabla 1

Puntos de corte para el tamizaje para BLEE en E. coli y K. pneumoniae

Especie	ATB	Lectura (Horas)		
		4 horas	6 horas	8 horas
<i>E. coli</i>	CTX	<15	<16	<17
	CAZ	<15	<16	<17
<i>K. pneumoniae</i>	CTX	<15	<18	<18
	CAZ	<15	<16	<16

Nota. Tomado de Zone diameter breakpoints for rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from blood culture bottles por European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2019.

Tabla 2

Puntos de corte para el tamizaje para Carbapenemasas en E. coli y K. pneumoniae

Especie	ATB	Lectura (Horas)		
		4 horas	6 horas	8 horas
<i>E. coli</i>	Meropenem	-	<20	<20
<i>K. pneumoniae</i>		-	<18	<19

Nota. Tomado de Zone diameter breakpoints for rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from blood culture bottles por European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2019.

3.7 Análisis de datos

Para el rendimiento del tamizaje de la prueba RAST, el análisis se realizó de la siguiente manera:

El sistema BD Phoenix y la prueba bioquímica Blue-Carba son considerados métodos de referencia debido a que, se utilizan de forma convencional en el laboratorio de la UNICAMP.

Se compararon los resultados del tamizaje de la prueba RAST con los resultados de la metodología BD y se compararon los resultados de la prueba RAST con los resultados de la metodología Blue-Carba. La correspondencia entre ambas metodologías se realizó mediante un análisis de concordancia de Kappa para cada tiempo de incubación de 4,6 y 8 horas. También se compararon los resultados de la prueba RAST con los resultados de la metodología Blue-Carba. La correspondencia entre ambas metodologías se realizó mediante un análisis de concordancia de Kappa para cada tiempo de incubación de 6 y 8 horas. El índice Kappa se interpretó de la siguiente manera: 0.0-0.20, ínfima concordancia; 0.21-0.40, escasa concordancia; 0.41-0.60, correlación moderada; 0.61-0.80, buena concordancia; 0.81-1,0, muy buena concordancia.

Para determinar la diferencia de los tiempos de respuesta del método RAST y del método BD Phoenix 100 AST y la diferencia de tiempos de respuesta de RAST y del método Blue-Carba, se calculó la media los tiempos de reporte de los tres métodos.

Se utilizó el paquete estadístico Stata 16.1 para todos los análisis estadísticos.

3.8 Consideraciones éticas

El presente proyecto tuvo como objetivo evaluar el rendimiento del tamizaje de un test de sensibilidad antibacteriana en hemocultivos procesados en la rutina del servicio de microbiología de la UNICAMP. Con número de parecer 4.325.177, se aprobó el presente proyecto de investigación por el Comité de Ética en Pesquisa (CEP) de la Universidad Estatal de Campinas.

No se recolectó directamente ninguna muestra biológica del paciente. Al ser seleccionados los hemocultivos en el proyecto, el número de HC se sustituyó por un número interno de trabajo para mantener en el anonimato de todos los pacientes. Se seleccionaron los hemocultivos positivos que son procesados en el laboratorio, a solicitud médica, sin intervenir en el reporte de resultados liberados rutinariamente por el laboratorio por ello, se solicitó la dispensa del consentimiento informado.

Los procedimientos de laboratorio se realizaron en el área de hemocultivos del Laboratorio de Microbiología del Sector de Microbiología de la División de Patología Clínica del Hospital Clínico UNICAMP (Anexo C y D).

IV. RESULTADOS

Durante el período de estudio, se obtuvieron 88 muestras positivas de hemocultivo de las cuales, 37 fueron *E. coli* y 51 fueron *K. pneumoniae*. Del total presentado, 82 muestras fueron monomicrobianas por la tinción de Gram y MALDI Biotyper y 6 (6.8%) fueron identificadas como muestras polimicrobianas durante el procedimiento RAST (fueron detectadas por las zonas dobles de crecimiento en la placa de antibiograma a las 6 u 8 horas de lectura). Entre las combinaciones de muestras polimicrobianas de *E. coli* y *K. pneumoniae* obtuvimos: 1 de *E. coli*/*P. aeruginosa*, 2 de *E. coli*/*K. pneumoniae*, 1 de *K. Pneumoniae*/*E. faecalis*, 1 de *K. Pneumoniae*/*K. aerogenes* y 1 de *K. pneumoniae*/*P. aeruginosa*. Sin embargo, el análisis se realizó solo con 82 especies bacterianas después de excluir muestras polimicrobianas y sin zonas legibles de lectura.

Por los métodos convencionales de BD Phoenix y Blue-Carba para la detección de BLEE y carbapenemasas, respectivamente, del total de las 34 *Escherichia coli*, 5 (14.7%) fueron productoras betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y ninguna (0%) mostró ser productora de carbapenemasas y de 48 cepas de *Klebsiella pneumoniae*, 36 (76.6%) resultaron ser productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y 20 (41.7%) mostraron ser productoras de Carbapenemasas (Ver tabla 3 y 4).

Tabla 3*Incidencia de BLEE en las cepas de Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae*

Microorganismo	Detección de BLEE por Phoenix BD		
	Negativo	Positivo	Total
<i>E. coli</i>	29 85.30%	5 14.70%	34 42.00%
<i>K. pneumoniae</i>	11 23.40%	36 76.60%	47 58.00%
Total	40	41	81

Tabla 4*Incidencia de carbapenemasas en las cepas de Escherichia coli y Klebsiella*

Microorganismo	Detección de carbapenemasas por Blue Carba		
	Negativo	Positivo	Total
<i>E. coli</i>	34 100.00%	0 0.00%	34 41.50%
<i>K. pneumoniae</i>	28 58.30%	20 41.70%	48 58.50%
Total	62	20	82

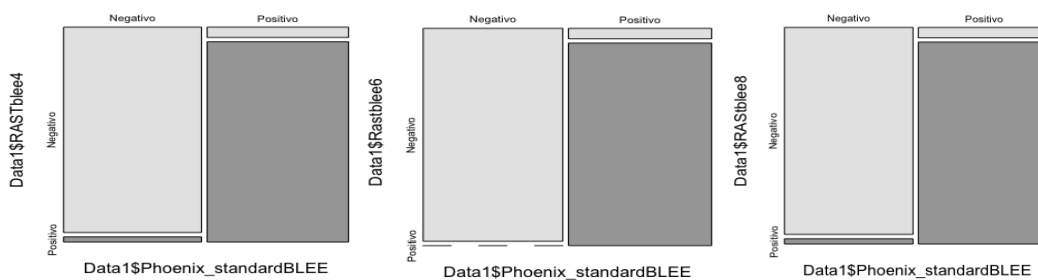
También se calculó el tiempo medio entre la positividad de botella de hemocultivo a *E. coli* y *K. pneumoniae* y el reporte de resultados. Para BLEE, utilizando los métodos convencionales combinados (identificación por MALDI Biotyper del aislamiento primario y sistema BD Phoenix 100 AST) y los métodos combinados evaluados (identificación directa mediante tampón de lisis casero, MALDI Biotyper y RAST). El tiempo medio de los métodos convencionales fue de 38 horas frente a las 9 horas de los métodos evaluados, reduciendo significativamente el tiempo de respuesta.

Tabla 5*Detección de BLEE a las 4,6 y 8 horas de incubación con RAST*

	Detección de BLEE por Phoenix BD		
	Negativo	Positivo	Total
Detección RAST BLEE a las 4 horas			
Negativo	39 95.1%	2 4.9%	41 50.6%
Positivo	1 2.50%	39 97.5%	40 49.4%
Total	40	41	81
Detección RAST BLEE a las 6 horas			
Negativo	40 95.20%	2 4.80%	42 51.9%
Positivo	0 0.00%	39 100.0%	39 48.1%
Total	40	41	81
Detección RAST BLEE a las 8 horas			
Negativo	39 95.1%	2 4.90%	41 50.60%
Positivo	1 2.50%	39 97.5%	40 49.4%
Total	40	41	81

Figura 1

Detección de BLEE a las 4, 6 y 8 horas de incubación en las cepas de Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae por RAST en el periodo de mayo-junio 2019



Para carbapenemasas, También se calculó el tiempo medio entre la positividad de botella de hemocultivo a *E. Coli* y *K. Pneumoniae* y el reporte de resultados, utilizando los métodos convencionales combinados (identificación por MALDI Biotyper del aislamiento primario y Blue-Carba) y los métodos combinados evaluados. El tiempo medio de los métodos convencionales fue de 28 horas frente a las 8 horas y 30 minutos de los métodos evaluados, reduciendo significativamente el tiempo de respuesta.

En el tamizaje de BLEE por RAST, se obtuvo una sensibilidad del 95,1% a las 4, 6 y 8 horas de lectura y se obtuvo una especificidad del 97,5%, 100% y 97,5% a las 4,6 y 8 h, respectivamente (Ver tabla 5 y figura 1).

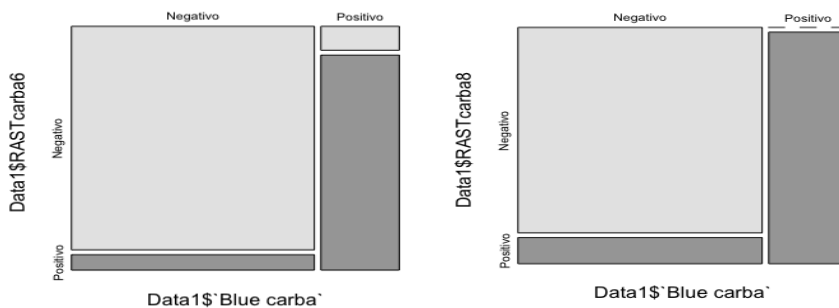
Tabla 6

Detección de carbapenemasas a las 6 y 8 horas de incubación con RAST

	Detección de carbapenemasas por Blue Carba		
	Negativo	Positivo	Total
Detección RAST carbapenemasas a las 6 horas			
Negativo	58 96.70%	2 3.30%	60 73.20%
Positivo	4 18.20%	18 81.80%	22 26.80%
Total	62	20	82
Detección RAST carbapenemasas a las 8 horas			
Negativo	55 100.00%	0 0.00%	55 67.10%
Positivo	7 25.90%	20 74.10%	27 32.90%
Total	62	20	82

Figura 2

Detección de carbapenemasas a las 6 y 8 horas de incubación en las cepas de Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae por RAST en el periodo de mayo-junio 2019



Para aquellos con resultados interpretables, utilizando los puntos de corte definidos por EUCAST en las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, RAST para el tamizaje de BLEE presentó una concordancia categórica aceptable para *E. coli* y *K. pneumoniae* de 0.92, 0.95 y 0.92 para 4, 6 y 8 horas, respectivamente.

Para el tamizaje de carbapenemasas por RAST, se analizaron 82 especies bacterianas. Después de excluir muestras polimicrobianas y sin datos de zonas legibles.

Se obtuvo una sensibilidad del 90% y 100% a las 6 y 8 horas de lectura, respectivamente. Se obtuvo una especificidad del 93,5% y el 88,7% a las 6 y 8 horas, respectivamente (Ver tabla 6 y figura 2).

Por otro lado, RAST para el tamizaje de carbapenemasas presentó una concordancia categórica aceptable para *E. coli* y *K. pneumoniae* de 0.80 y 0.75 para 6 y 8 horas, respectivamente.

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En este estudio se evaluó el rendimiento de una prueba directa rápida para la detección de microorganismos productores de BLEE y carbapenemasas en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* y el tiempo medio de su detección en el reporte de resultados. Mediante un análisis kappa se halló que el tamizaje BLEE y carbapenemasas por RAST a las 4, 6 y 8 horas de lectura tuvo una buena concordancia con los métodos convencionales que detectan estos mecanismos aproximadamente a las 18 horas de lectura.

Sin embargo, es necesario discutir algunos aspectos de gran importancia respecto a los parámetros relacionados con el diseño descriptivo utilizado en este estudio. En primer lugar, el total de las muestras polimicrobianas que se obtuvieron durante el procedimiento RAST fue del 6.8%. En otros hospitales la incidencia varía entre 6 al 34% (Zheng et al., 2020). Los aislados polimicrobianos se excluyeron porque se haría difícil confirmar la presencia de otros mecanismos de resistencia en las otras bacterias que forman parte de la muestra polimicrobiana (por ejemplo, AmpC, BLEE resistente a inhibidores, alteración o pérdida de porinas, sobreexpresión de bombas eflujo, etc.) y que podrían confundir la interpretación de la presencia o no de BLEE o carbapenemasas. Por lo tanto, se necesitan estudios adicionales que se enfoquen en determinar el impacto de la incidencia de las muestras polimicrobianas en el tamizaje para la detección de BLEE y carbapenemasas de EUCAST, ya que es un escenario que surgirá cuando se utilicen estos métodos rápidos combinados en ámbitos clínicos.

En segundo lugar, solo se incluyó las cepas bacterianas de la familia *Enterobacteriaceae* que presentaron mayor incidencia y con zonas legibles de lectura en el periodo de recolección de hemocultivos positivos monomicrobianos. Esta incidencia se extrapola a los casos de bacteriemia a nivel mundial en el que *E. coli* es la tercera causa más común en bacteriemias nosocomiales

(Ortega et al., 2009). Además, se ha visto un incremento a nivel mundial de las bacteriemias causadas por otras *Enterobacteriaceae*, como la *K pneumoniae* (García et al., 2011; Kang et al., 2004). Según la CDC, el Perú muestra un escenario similar en el que *K. pneumoniae* es la cepa con mayor incidencia (Lupo et al., 2012). En cuanto a los resultados del estudio, la mitad de las bacteriemias producidas por enterobacterias, son cepas productoras de BLEE, este panorama, según Winokur y Canton (2001), se muestra en toda Latinoamérica donde las cepas aisladas presentan mayor prevalencia de BLEE y mayores concentraciones mínimas inhibitorias para cefalosporinas de tercera generación comparado a otros lugares como la región del Pacífico Oriental, Europa, Estados Unidos y Canadá. Esto se podría explicar por el uso excesivo de cefalosporinas de amplio espectro y la falta de control de uso de antibióticos en todo el continente. En cuanto a la resistencia a carbapenémicos, en un estudio hecho por Dienstmann et al. (2010), en el hospital de Porto Alegre, no se reportó la presencia de carbapenemasas. Estos datos parecen contradictorios comparados a nuestro estudio en el que reportamos un 24.3 %, el cual es similar a otros estudios en Brasil y Perú (Adrianzén et al., 2013; Aguilar 2018; Reis et al., 2013). Todo esto es importante porque en el Perú se evidenció una mortalidad atribuible a bacteriemias por enterobacterias de 41,2 % de las cuales 54,3 % pertenecieron al grupo productor de BLEE (Adrianzén et al., 2013). Sin embargo, se necesitan estudios con mayor tiempo de recolección de muestras que permitan verificar estos reportes.

En cuanto al rendimiento del tamizaje de BLEE y carbapenemasas por el método RAST, se encontró una alta sensibilidad y especificidad. Sumado a ello, se halló una buena concordancia entre cada tiempo de lectura del método RAST con los métodos convencionales.

No obstante, debe considerarse realizar estudios con un mayor número de aislamientos, particularmente de *E. coli* y *k. pneumoniae* con presencia de estos mecanismos de resistencia,

debido a que puede afectar la precisión estadística del estudio. Por consiguiente, la extrapolación de nuestros datos a estudios futuros debe realizarse con cautela. Además, usamos el sistema BD Phoenix 100 AST como método de referencia a causa de que, no fue posible realizar una prueba adicional con microdilución en el laboratorio de la UNICAMP por el bajo presupuesto del estudio. Por otro lado, usamos el test de Blue-Carba para la detección de carbapenemasas directo del hemocultivo porque presenta una sensibilidad y especificidad del 100 % (Pasteran et al., 2015). A pesar de que el cribado de carbapenemasas RAST representa un método con buena concordancia, la prueba Blue-Carba puede mejorar la precisión de esta información que puede parecer dudosa debido a los cortos períodos de incubación. Por lo tanto, la comparación desigual entre RAST y los métodos convencionales BD Phoenix 100 AST y Blue-Carba debe considerarse como otra limitación.

Con relación al tiempo medio entre la entrega de resultados y la positividad de la botella de hemocultivo con *E. Coli* y *K. Pneumoniae*, se determinó un tiempo medio de 20 horas entre los métodos convencionales y los métodos evaluados. Esto difiere del estudio de Jasuja et al. (2021) el cual reporta una diferencia menor (17,5 horas) entre el tiempo de respuesta del método RAST y del método Vitek2. Esto es debido a que, el laboratorio de Microbiología de la UNICAMP ofrece un servicio de atención 24 horas. Al procesar inmediatamente la botella de hemocultivo después de señalar como positivo, permitió un menor TAT del método RAST. No obstante, debe considerarse que los laboratorios de microbiología no son idénticos y las variaciones en la estandarización técnica de procedimientos son significativas a la hora de comparar el tiempo medio de entrega de resultados, por lo que se recomienda a otros laboratorios expandir sus tiempos operativos. Por lo tanto, nos permite postular que la integración del tamizaje

para BLEE y carbapenemasas RAST tendría un impacto sobre el beneficio clínico al detectar los mecanismos de resistencia de manera oportuna.

Evaluar el impacto clínico de obtener el resultado de estos perfiles de resistencia a las 4, 6 y 8 horas estaba fuera del alcance de este estudio. Como demuestran Pérez et al. (2013) la reducción del tiempo de estos resultados acorta los días de estancia hospitalaria y la mortalidad en el paciente. El análisis del beneficio clínico de la entrega de estos resultados de perfil de resistencia sería de gran interés y planeamos realizar un estudio de este tipo en un futuro próximo.

VI. CONCLUSIONES

- a. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el tamizaje de BLEE y carbapenemasas en *E. coli* y *K. pneumoniae* por la prueba rápida de susceptibilidad antimicrobiana propuesta por EUCAST en el ámbito clínico.
- b. El tamizaje de BLEE y carbapenemasas por RAST, a lecturas de 4, 6 y 8 h, mostró buena concordancia con los métodos convencionales del laboratorio. Sin embargo, una limitación de este estudio es el número limitado de aislamientos analizados por lo que se necesitarán estudios adicionales con un mayor periodo de recolección de muestras que incluyan microorganismos de mayor incidencia para evaluar el tamizaje de mecanismos de resistencia con el método RAST.
- c. La inclusión de identificación rápida MALDI Biotyper y; perfil de susceptibilidad con RAST directo del frasco del hemocultivo positivo puede mejorar el tiempo de respuesta y direccionar la elección de la terapia con medicamentos para el paciente con bacteriemia.

VII. RECOMENDACIONES

- a. En los laboratorios de Microbiología del Perú se deben implementar equipos, instrumentos y reactivos necesarios para la identificación, antibiograma y la detección de mecanismos de resistencia de agentes etiológicos presentes en la bacteriemia de manera rápida y precisa.
- b. Se debe realizar estudios enfocados en la evaluación de protocolos rápidos para la detección de mecanismos de resistencia en los aislamientos de mayor incidencia en los hospitales del Perú.

VIII. REFERENCIAS

- Adrianzén, D., Arbizu, Á., Ortiz, J., y Samalvides, F. (2013). Mortalidad por bacteriemia causada por *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. Productoras de betalactamasas de espectro extendido: Cohorte retrospectiva en un hospital de Lima, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 30(1), 18-25. <https://rpmesp.ins.gob.pe/rpmesp/article/view/150>
- Aguilar, F. (2018). *Prevalencia y sensibilidad antibiótica, en los hemocultivos procesados en adultos del Hospital III ESSALUD Iquitos de diciembre 2014 a marzo 2015*. [Tesis de Licenciatura, Universidad Científica del Perú]. Repositorio Institucional de la UCP. <http://repositorio.ucp.edu.pe/handle/UCP/483>
- Barnini, S., Brucculeri, V., Morici, P., Ghelardi, E., Florio, W., y Lupetti, A. (2016). A new rapid method for direct antimicrobial susceptibility testing of bacteria from positive blood cultures. *BMC Microbiology*, 16(1), 1-8. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0805-5>
- Battle, S., Bookstaver, P., Justo, J., Kohn, J., Albrecht, H., y Al-Hasan, M. (2017). Association between inappropriate empirical antimicrobial therapy and hospital length of stay in Gram-negative bloodstream infections: Stratification by prognosis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(1), 299-304. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw402>
- Bauer A., Kirby W., Sherris J., y Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4), 493-496.
- Chandrasekaran, S., Abbott, A., Campeau, S., Zimmer, B. L., Weinstein, M., Thrupp, L., Hejna, J., Walker, L., Ammann, T., Kirn, T., Patel, R., y Humphries, R. M. (2018). Direct-from-Blood-Culture Disk Diffusion To Determine Antimicrobial Susceptibility of Gram-

- Negative Bacteria: Preliminary Report from the Clinical and Laboratory Standards Institute Methods Development and Standardization Working Group. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(3), 1-10. <https://doi.org/10.1128/JCM.01678-17>
- Cuellar-Rodríguez, J., Ponce, A., Quiroz, R., Galindo, A., Hernández, M., Ruiz, G. M., y Sifuentes, J. (2009). Rapid detection of ESBL-producing gram-negative bacteria isolated from blood: A reasonable and reliable tool for middle and low resource countries. *Revista de Investigación Clínica*, 61(4), 306-312. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenI.cgi?IDARTICULO=41076>
- Doern, G., Scott, D., Rashad, A., y Kim, K. (1981). Evaluation of a direct blood culture disk diffusion antimicrobial susceptibility test. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 20(5), 696-698. <https://doi.org/10.1128/aac.20.5.696>
- Eigner, U., Schmid, A., Wild, U., Bertsch, D., y Fahr, A. (2005). Analysis of the Comparative Workflow and Performance Characteristics of the VITEK 2 and Phoenix Systems. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(8), 3829-3834. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.8.3829-3834.2005>
- Ericsson, H, y Sherris, J. (1971). Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica. Section B: Microbiology and Immunology*, 217, 1-10.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing [EUCAST]. (02 de mayo de 2019). *Zone diameter breakpoints for rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from blood culture bottles. Version 1.1.* https://www.eucast.org/rapid_ast_in_blood_cultures/breakpoints_for_short_incubation/
- European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases [ESCMID]. (2019). *EUCAST*

rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from positive blood culture bottles. Version 1.1. ESCMID.

Falconí, A., Nolasco, M., Bedoya, A., Amaro, C., y Málaga, G. (2018). Frecuencia y factores de riesgo para bacteriemia por enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido en pacientes de un hospital público de Lima, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 35(1), 62-67. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.351.3601>

Fernández, E., Planes, A., Rodríguez, M. (2003). *Procedimientos en Microbiología Clínica*. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica - SEIMC.

Goel, G., Das, D., Mukherjee, S., Bose, S., Das, K., Mahato, R., y Bhattacharya, S. (2015). A method for early detection of antibiotic resistance in positive blood cultures: Experience from an oncology centre in eastern India. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 33(supplement 1), 53-58. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.150883>

Herrera, M. L. (1999). Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: Metodología de laboratorio. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños*, 34(supplement 0), 33-41. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-257247>

Ibrahim, E., Sherman, G., Ward, S., Fraser, V., y Kollef, M. (2000). The Influence of Inadequate Antimicrobial Treatment of Bloodstream Infections on Patient Outcomes in the ICU Setting. *Chest*, 118(1), 146-155. <https://doi.org/10.1378/chest.118.1.146>

Jasuja, J., Zimmermann, S., y Burckhardt, I. (2021). Applicability and performance of EUCAST's rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) on primarily sterile body fluids in blood culture bottles in laboratory routine with total lab automation. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 40(6), 1217-1225. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-04146-6>

- Jonasson, E., Matuschek, S., Sundqvist., y Kahlmeter. (21 a 24 de abril de 2018). *Multi-laboratory validation of the rapid method for antimicrobial susceptibility testing directly from positive blood cultures proposed by EUCAST*. 28th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Madrid, España. https://www.escmid.org/escmid_publications/escmid_elibrary/material/?mid=62298
- Jorgensen, J., y Ferraro, M. (2009). Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. *Clinical Infectious Diseases*, 49(11), 1749-1755. <https://doi.org/10.1086/647952>
- Kang, C., Kim, S., Park, W., Lee, K., Kim, H., Kim, E., Oh, M., y Choe, K. (2004). Bloodstream Infections Due to Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: Risk Factors for Mortality and Treatment Outcome, with Special Emphasis on Antimicrobial Therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(12), 4574-4581. <https://doi.org/10.1128/aac.48.12.4574-4581.2004>
- Koneman, A., Janda, W., Pprocop, S., y Woods. (2008). *Koneman. Diagnóstico Microbiológico: Texto y Atlas en Color*. Médica Panamericana.
- Kumar, A., Roberts, D., Wood, K. E., Light, B., Parrillo, J. E., Sharma, S., Suppes, R., Feinstein, D., Zanotti, S., Taiberg, L., Gurka, D., Kumar, A., y Cheang, M. (2006). Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Critical Care Medicine*, 34(6), 1589-1596. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000217961.75225.E9>
- Lupo, J., Bernard, S., Wintenberger, C., Baccard, M., Vabret, A., Antona, D., Timsit, J., y Morand, P. (2012). Fatal Measles without Rash in Immunocompetent Adult, France. *Emerging Infectious Diseases*, 18(3), 521-523. <https://doi.org/10.3201/eid1803.111300>

- March, G. A., y Bratos, M. Á. (2016). Antibiograma rápido en Microbiología Clínica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 34(1), 61-68. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.11.014>
- Mosqueda, J., Montaña, A., Rolón, A., Cervantes, C., Bobadilla, J., Silva, J., Garza, U., Villasís, A., Galindo, A., Palacios, G., Ponce, A., y Sifuentes, J. (2008). Molecular epidemiology and risk factors of bloodstream infections caused by extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *International Journal of Infectious Diseases*, 12(6), 653-659. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2008.03.008>
- Oliveros, A., Uribe, N., Sierra, P., Jaimes, F., y González, J. M. (2015). Bacteriemia por enterobacterias resistentes a carbapenems. Un estudio transversal. *Infectio*, 19(2), 60-66. <https://doi.org/10.1016/j.infect.2014.11.006>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (13 de octubre de 2020). *Resistencia a los antimicrobianos*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- Organización Panamericana de la Salud [OPS]. (2019). *Tratamiento de las enfermedades infecciosas 2020-2022*. Organización Mundial de la Salud. <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51695>
- Ortega, M., Marco, F., Soriano, A., Almela, M., Martínez, J. A., Muñoz, A., y Mensa, J. (2009). Analysis of 4758 *Escherichia coli* bacteraemia episodes: Predictive factors for isolation of an antibiotic-resistant strain and their impact on the outcome. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 63(3), 568-574. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn514>
- Pasteran, F., Veliz, O., Ceriana, P., Lucero, C., Rapoport, M., Albornoz, E., Gomez, S., y Corso, A. (2015). Evaluation of the Blue-Carba Test for Rapid Detection of Carbapenemases in

Gram-Negative Bacilli. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(6), 1996-1998.

<https://doi.org/10.1128/JCM.03026-14>

Pires, J., Novais, Â., y Peixe, L. (2013). Blue-Carba, an Easy Biochemical Test for Detection of Diverse Carbapenemase Producers Directly from Bacterial Cultures. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(12), 4281-4283. <https://doi.org/10.1128/JCM.01634-13>

Rajshekar, D., Chaudhari, K., Bhat, P., Prakash, S., Raghvan, R., Vasanth, S., Jayakar, S., Sugumaran, R., Kannambath, R., Chowdury, S., Sneha, R., Nair, A., Greeshma, V., Rajavelu, D., y Sastry, A. (2019). Evaluation of performance of direct disk diffusion test from positively flagged blood culture broth: A large scale study from South India. *Journal of Laboratory Physicians*, 11(2), 154-160. https://doi.org/10.4103/JLP.JLP_137_18

Richter, S. S., y Ferraro, M. J. (2011). Capítulo 69: Instrumentación de prueba de susceptibilidad y sistemas informáticos expertos para análisis e interpretación de datos. En J. Versalovic, K. C. Carroll, G. Funke, J. H. Jorgensen, M. L. Landry y D. W. Warnock (Eds.), *Manual de Microbiología Clínica*. 10 ed. (pp. 1144-1154). Wiley.

Rodríguez, J. C., Guna, M. d. R., Larrosa, N., y Marín, M. (2017). *Diagnóstico microbiológico de la bacteremia y la fungemia: Hemocultivos y métodos moleculares*. SEIMC

Schneeweiss, S., Göttler, M., Hasford, J., Swoboda, W., Hippus, M., Hoffmann, A., Riethling, A., y Krappweis, J. (2001). First results from an intensified monitoring system to estimate drug related hospital admissions. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 52(2), 196-200. <https://doi.org/10.1046/j.0306-5251.2001.01425.x>

Shorr, A., Micek, S., y Kollef, M. H (2008). Inappropriate therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Resource utilization and cost implications. *Critical Care Medicine*, 36(8), 2335-2340. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e31818103ea>

- Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica [SEIMC]. (2011). *Procedimientos en Microbiología Clínica*. SEIMC.
- Tafur, J., Torres, J., y Villegas, M. (2008). Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Infectio*, 12(3), 227-232. <http://dx.doi.org/10.22354/issn.2422-3794>
- Tumbarello, M., Spanu, T., Sanguinetti, M., Citton, R., Montuori, E., Leone, F., Fadda, G., y Cauda, R. (2006). Bloodstream Infections Caused by Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae*: Risk Factors, Molecular Epidemiology, and Clinical Outcome. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(2), 498-504. <https://doi.org/10.1128/aac.50.2.498-504.2006>
- Universidade Estadual de Campinas. (1994). *Historia Unicamp*. Unicamp.
- Váradí, L., Luo, J., Hibbs, D., Perry, J., Anderson, R., Orenge, S., y Groundwater, P. (2017). Methods for the detection and identification of pathogenic bacteria: Past, present, and future. *Chemical Society Reviews*, 46(16), 4818-4832. <https://doi.org/10.1039/c6cs00693k>
- Vicent., M. (2015). *Bacterias aisladas con mayor frecuencia y perfil de resistencia antibiotica en cultivos y antibiogramas de muestras procedentes de la unidad de cuidados intensivos-Clínica*. [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. Repositorio Institucional de la UNSA. <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/3502/MDvicama.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Winokur, P., Canton, R., Casellas, J. M., y Legakis, N. (2001). Variations in the Prevalence of Strains Expressing an Extended-Spectrum β -Lactamase Phenotype and Characterization

of Isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific Region. *Clinical Infectious Diseases*, 32(supplement 2), 94-103. <https://doi.org/10.1086/320182>

IX. ANEXOS

Anexo A. Operacionalización de las variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Unidad de medida	Escala	Valor final
Comparación del rendimiento del tamizaje RAST con los métodos convencionales	Es la relación de los resultados obtenidos por el método evaluado con los resultados obtenidos por el método de referencia.	Para los ATB, es el nivel de concordancia y discrepancias entre el método evaluado y el método de referencia.	Indicadores de rendimiento de prueba diagnóstica	Sensibilidad Especificidad Concordancia	Porcentaje Porcentaje Porcentaje	Intervalo Intervalo Intervalo	0-100% 0-100% 0-100%
Tamizaje para BLEE y carbapenemasas por la Prueba RAST	Tamizaje para detección de BLEE y carbapenemasas en tiempos de lectura de 4, 6 y 8 horas directamente de frascos positivos para hemocultivos.	Método que permite determinar la presencia del mecanismo de resistencia BLEE o carbapenemasas. Categorizando a las cepas como sensibles o resistentes para un grupo de antibióticos validados.	Detección de BLEE en <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> según el halo de inhibición de crecimiento. (Ver tabla 1) Detección de Carbapenemasas en <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> según el halo de inhibición de crecimiento. (Ver tabla 2)	Punto de corte de la medida del halo de inhibición para BLEE y Carbapenemasas	Milímetro(mm)	Categorica	Detección de BLEE y carbapenemasas por los métodos= 1 No detección de BLEE y carbapenemasas por los métodos= 0

Anexo B. Ficha de recolección de datos

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

<i>Escherichia coli</i>									
Código: _____									
Antibiótico	µg	4 HORAS		6 HORAS		8 HORAS		BD Phoenix	EUCAST
		mm	S/R/ATU	mm	S/R/ATU	mm	S/R/ATU	MIC	S/I/R/ATU
Piperacillin-tazobactam	30-6								
Cefotaxime	5								
Ceftazidime	10								
Meropenem	10								
Ciprofloxacin	5								
Amikacin	30								
Gentamicin	10								
Tobramycin	10								

Specie	Antimicrobial agent	Conduct ESBL testing if			BD Phoenix
		4 hours	6 hours	8 hours	ESBL
		+/-	+/-	+/-	
<i>E. coli</i>	Cefotaxime 5 µg				
	Ceftazidime 10 µg				

Specie	Antimicrobial agent	Conduct Carbapenemase testing if		Blue-Carba
		6 hours	8 hours	Carbapenemase
		+/-	+/-	
<i>E. coli</i>	Meropenem			

<i>Klebsiella pneumoniae</i>									
Código: _____									
Antibiótico	µg	4 HORAS		6 HORAS		8 HORAS		BD Phoenix	EUCAST
		mm	S/R/ATU	mm	S/R/ATU	mm	S/R/ATU	MIC	S/I/R/ATU
Piperacillin-tazobactam	30-6								
Cefotaxime	5								
Ceftazidime	10								
Meropenem	10								
Ciprofloxacin	5								
Amikacin	30								
Gentamicin	10								
Tobramycin	10								

Specie	Antimicrobial agent	Conduct ESBL testing if			BD Phoenix
		4 hours	6 hours	8 hours	ESBL
		+/-	+/-	+/-	
<i>K. pneumoniae</i>	Cefotaxime 5 µg				
	Ceftazidime 10 µg				

Specie	Antimicrobial agent	Conduct Carbapenemase testing if		Blue-Carba
		6 hours	8 hours	Carbapenemase
		+/-	+/-	
<i>K. pneumoniae</i>	Meropenem 10 µg			

Anexo C. Permiso del laboratorio UNICAMP y uso de datos



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA**

Campinas, São Paulo, Brasil, 20 de noviembre del 2021

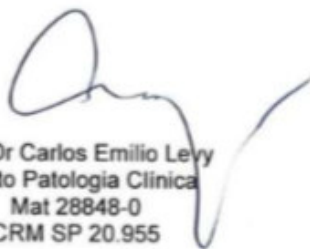
Declaración

Declaro que Eva Marisol Mamani Pariona fue participe de la parte analítica del proyecto para la evaluación del método RAST (Prueba Rápida de Sensibilidad a los Antimicrobianos) de EUCAST a partir de hemocultivos. Este proyecto fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la FCM Unicamp. El proyecto recibió apoyo financiero de FAEPEX - Número de solicitud: 3281/19.

El trabajo "Evaluación prospectiva del método de disco de difusión rápida EUCAST para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana de bacterias directamente aisladas de frascos de hemocultivo" tiene como autor principal a Jesús Giovanni Mamani Pariona y colaboradores Eva Mamani Pariona, Flavio Andrade Oliveira, el Prof. Dr. Nilton Erbet Lincopan y el Prof. Dr. Carlos Emilio Levy como supervisor. Eva realizó el análisis estadístico de las 180 muestras que permitió un avance importante en el diagnóstico y prueba de sensibilidad de muestras de pacientes con bacteriemia y sepsis.



El objetivo secundario de este proyecto es objeto de la tesis "Prueba rápida de sensibilidad antimicrobiana para tamizaje de betalactamasas espectro extendido y carbapenemasas en enterobacterias en hemocultivos" de Eva M. Mamani Pariona para ser realizada en Lima, Perú, en la Universidad Nacional Federico Villareal.

Sinceramente,



Prof Dr Carlos Emilio Levy
Depto Patologia Clínica
Mat 28848-0
CRM SP 20.955

Anexo D. Fontes de financiamento

	UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS											
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP												
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA												
Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO PROSPECTIVA DO TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA RÁPIDO DO EUCAST DIRETAMENTE DE HEMOCULTURAS POSITIVAS PROVENIENTES DO COMPLEXO HOSPITALAR DA UNICAMP												
Pesquisador: Carlos Emilio Levy												
Área Temática:												
Versão: 3												
CAAE: 20247319.2.0000.5404												
Instituição Proponente: Hospital de Clínicas - UNICAMP												
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio												
DADOS DO PARECER												
Número do Parecer: 4.325.177												
Apresentação do Projeto:												
<p>As informações contidas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram obtidas dos documentos apresentados para apreciação ética e das informações inseridas pelo Pesquisador Responsável do estudo na Plataforma Brasil.</p>												
Introdução:												
<p>As infecções da corrente sanguínea (ICS) representam um grave risco para a saúde dos pacientes, uma vez que as taxas de mortalidade podem variar de 25 a 80%, dependendo de várias comorbidades e fatores microbianos que causam a doença (1,2). No trabalho de Kumar et al., mostram que a cada hora de demora no tratamento adequado de uma septicemia, a mortalidade aumenta em 7,6% (3). Para a administração do tratamento adequado é necessário a identificação (ID) e do teste de susceptibilidade aos antimicrobianos (TSA) do agente etiológico da ICS. Os métodos convencionais de ID e de TSA a obtenção dos resultados podem demorar vários dias desde a positividade do frasco de hemocultura, motivo pelo qual ante a suspeita da bacteremia é iniciada em pacientes o tratamento empírico com antibióticos, o que pode levar a falha terapêutico pela falta de cobertura a microrganismos resistentes aos antibióticos. Por isso, o tratamento empírico deve ser reduzido no possível, até se obter os resultados do TSA para prescrever o</p>												
<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td>Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126</td> <td>CEP: 13.083-887</td> </tr> <tr> <td>Bairro: Barão Geraldo</td> <td></td> </tr> <tr> <td>UF: SP</td> <td>Município: CAMPINAS</td> </tr> <tr> <td>Telefone: (19)3521-8936</td> <td>Fax: (19)3521-7187</td> </tr> <tr> <td></td> <td>E-mail: cep@fcm.unicamp.br</td> </tr> </table>			Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126	CEP: 13.083-887	Bairro: Barão Geraldo		UF: SP	Município: CAMPINAS	Telefone: (19)3521-8936	Fax: (19)3521-7187		E-mail: cep@fcm.unicamp.br
Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126	CEP: 13.083-887											
Bairro: Barão Geraldo												
UF: SP	Município: CAMPINAS											
Telefone: (19)3521-8936	Fax: (19)3521-7187											
	E-mail: cep@fcm.unicamp.br											
Página 01 de 09												

Anexo E. Matriz de consistencia

Problema	Objetivos	Metodología	Variables
<p>Problema general</p> <p>¿Cuál es el rendimiento de la prueba rápida de susceptibilidad antimicrobiana (RAST) en el tamizaje de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas en <i>Escherichia coli</i> y <i>Klebsiella pneumoniae</i> en hemocultivos del hospital de la Universidad Estatal de Campinas (UNICAMP) de Brasil en el 2019?</p> <p>Problemas específicos</p> <p>¿Cuál es la sensibilidad y especificidad de la prueba RAST en el</p>	<p>Objetivo general</p> <p>Evaluar el rendimiento de la prueba rápida de susceptibilidad antimicrobiana (RAST) en el tamizaje para betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas en <i>Escherichia coli</i> y <i>Klebsiella pneumoniae</i> en hemocultivos del hospital de la Universidad Estatal de Campinas (UNICAMP) de Brasil en el año 2019.</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>Determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba RAST en el tamizaje de BLEE en <i>E. coli</i> y <i>K.</i></p>	<p>Tipo de estudio</p> <p>Descriptivo, prospectivo y de corte transversal.</p> <p>Diseño</p> <p>No experimental</p> <p>Muestra</p> <p>Para este estudio, se recolectaron 171 hemocultivos positivos monomicrobianos, del</p>	<p>Comparación del rendimiento del tamizaje RAST con los métodos convencionales</p> <p>Indicador</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sensibilidad - Especificidad - Concordancia <p>Tamizaje para BLEE y carbapenemasas por la Prueba RAST</p> <p>Indicador</p>

<p>tamizaje de BLEE en <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> a las 4, 6 y 8 horas de lectura en el hospital de la UNICAMP en el 2019?</p> <p>¿Cuál es la sensibilidad y especificidad de la prueba RAST en el tamizaje de carbapenemasas en <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> a las 6 y 8 horas de lectura en el hospital de la UNICAMP en el 2019?</p> <p>¿Cuál es la concordancia entre el tamizaje de BLEE en <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> a las 4, 6 y 8 horas de lectura de la prueba RAST y el método convencional en el hospital de la UNICAMP en el 2019?</p>	<p><i>pneumoniae</i> a las 4, 6 y 8 horas de lectura en el hospital de la UNICAMP en el 2019.</p> <p>Determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba RAST en el tamizaje de carbapenemasas en <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> a las 6 y 8 horas de lectura en el hospital de la UNICAMP en el 2019.</p> <p>Indicar la concordancia entre el tamizaje de BLEE en <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> a las 4, 6 y 8 horas de lectura de la prueba RAST y el método convencional en el hospital de la UNICAMP en el 2019.</p> <p>Indicar la concordancia entre el tamizaje de carbapenemasas en <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> a las 6 y 8 horas de lectura de</p>	<p>complejo hospitalario de la UNICAMP recolectados en el periodo de mayo-junio del 2019.</p> <p>Del total se obtuvieron 82 hemocultivos positivos monomicrobianos que cumplen con los criterios de inclusión y exclusión de los cuales, 34 fueron positivos para <i>Escherichia coli</i> y 48</p>	<p>- Punto de corte de la medida del halo de inhibición para BLEE y Carbapenemasas</p>
--	---	--	--

<p>¿Cuál es la concordancia entre el tamizaje de carbapenemasas en <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> a las 6 y 8 horas de lectura de la prueba RAST y el método convencional en el hospital de la UNICAMP en el 2019?</p> <p>¿Cuáles son los tiempos de respuesta de detección de BLEE y carbapenemasas por RAST con los métodos convencionales en <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> aisladas de hemocultivos del hospital de la UNICAMP en el 2019?</p>	<p>la prueba RAST y método convencional en el hospital de la UNICAMP en el 2019.</p> <p>Comparar el tiempo de respuesta de detección de BLEE y carbapenemasas por RAST con los métodos convencionales en <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> aisladas de hemocultivos del hospital de la UNICAMP en el 2019.</p>	<p>para <i>Klebsiella pneumoniae</i>.</p>	
--	--	---	--