

Evaluación de métodos para la detección de carbapenemasas en Enterobacteriales causantes de infecciones: un estudio comparativo con PCR en tiempo real en Cuba

Evaluation of methods for the detection of carbapenemases in Enterobacteriales causing infections: a comparative study with Real-Time PCR in Cuba

Dianelys Quiñones Pérez^{1*} <https://orcid.org/0000-0003-4506-6890>

Jonnathan Gerardo Ortiz Tejedor¹ <https://orcid.org/0000-0001-6770-2144>

Mislady Rodríguez Ortega¹ <https://orcid.org/0000-0001-9455-6103>

Yenisel Carmona Cartaya¹ <https://orcid.org/0000-0003-1241-5302>

¹ Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK). La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: dia@ipk.sld.cu

RESUMEN

Introducción: Las enterobacterias productoras de carbapenemasas constituyen un problema de salud pública debido a la extremoderresistencia que propician, alta morbilidad y rápida diseminación. La detección temprana de estas es esencial para su control clínico y epidemiológico.

Objetivo: Evaluar el desempeño de dos métodos diagnósticos, las tabletas combinadas ROSCO y el inmunocromatográfico Coris RESIST-3 O.K.N. para detectar metalobetalactamasas, comparados con PCR en tiempo real.

Métodos: Estudio observacional de corte transversal retrospectivo (2015–2018) realizado en el Instituto de medicina Tropical Pedro Kourí. Se incluyeron 100 aislados clínicos de Enterobacteriales resistentes a carbapenémicos de 11 hospitales en ocho provincias cubanas. Los aislados se analizaron mediante ROSCO, Coris RESIST-3 O.K.N. y la PCR para blaNDM, blaKPC, blaVIM, blaIMP. Se calcularon sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo e índice kappa.

Resultados: El 71 % de los aislados produjeron carbapenemasas. Predominó blaNDM (100 %), seguido de blaKPC (12,7 %) y blaVIM (9,8 %), con 22,5 % de coproducción. El método ROSCO clasificó el 100 % de los aislados como positivos (productores de carbapenemasas), y mostró un 100 % de sensibilidad y especificidad y muy buena concordancia ($\kappa=1,00$). El 90,1 % de los aislados resultaron positivas al emplear el método RESIST-3 O.K.N., el cual presentó sensibilidad del 90,14 %, especificidad del 100 % y muy buena concordancia ($\kappa=0,84$). Ambos métodos demostraron alto valor predictivo positivo (100 %).

Conclusión: Los métodos evaluados constituyen alternativas útiles para la detección de carbapenemasas en laboratorios cubanos sin acceso a PCR, optimizando la vigilancia y el control de brotes. La predominancia de NDM y la coproducción de diferentes tipos genéticos subrayan la necesidad de fortalecer la vigilancia microbiológica y epidemiológica para disminuir la morbilidad asociada a esta emergencia.

Palabras clave: Enterobacteriales; carbapenemasas; métodos diagnósticos; Cuba

ABSTRACT

Background: Carbapenemase-producing Enterobacterales are a public health problem due to their extreme drug resistance, high morbidity and mortality, and rapid spread. Early detection of these resistance mechanisms is critical for clinical and epidemiological control.

Objective: To evaluate the performance of two diagnostic methods available in Cuba the ROSCO combined disc test and Coris RESIST-3 O.K.N. immunochromatography—for detecting metallo- β -lactamases, compared to real-time PCR.

Methods: A retrospective cross-sectional observational study (2015–2018) was conducted at the Pedro Kourí Institute. One hundred carbapenem-resistant Enterobacterales isolates from 11 hospitals across eight Cuban provinces were analyzed by ROSCO, Coris RESIST-3 O.K.N., and PCR for *bla*NDM, *bla*KPC, *bla*VIM, *bla*IMP. Sensitivity, specificity, positive and negative predictive values, and Cohen's kappa index were calculated.

Results: Seventy-one isolates (71 %) harbored carbapenemase genes: *bla*NDM (100 %), *bla*KPC (12.7 %), and *bla*VIM (9.8 %), with 22.5 % co-producers. The ROSCO method classified 100 % of the isolates as positive (carbapenemase producers) and showed 100 % sensitivity and specificity, with very good concordance ($\kappa=1.00$). Ninety-one percent of the isolates were positive using the RESIST-3 O.K.N. method, which had a sensitivity of 90.14 %, a specificity of 100 %, and very good concordance ($\kappa=0.84$). Both methods demonstrated a high positive predictive value (100 %).

Conclusions: The evaluated methods constitute useful alternatives for detecting carbapenemases in Cuban laboratories without access to PCR, optimizing surveillance and outbreak control. The predominance of NDM and the co-production of different genetic types underscore the need to strengthen

microbiological and epidemiological surveillance to reduce the morbidity and mortality associated with this emergency.

Keywords: Enterobacterales; carbapenemases; diagnostic methods; Cuba

Recibido: 20/07/2025

Aceptado: 21/09/2025

Introducción

La disminución en la eficacia terapéutica frente a infecciones nosocomiales causadas por bacilos gramnegativos se intensifica desde la aparición, en 1996, de aislados de Enterobacterales resistentes a los carbapenémicos, fármacos considerados de última línea para el tratamiento de infecciones por bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Esta situación se relaciona con la emergencia de una nueva clase de enzimas: las carbapenemases, las cuales constituyen uno de los principales retos en el control de las infecciones asociadas a la atención sanitaria.⁽¹⁾

Las carbapenemases son un grupo variado de enzimas capaces de hidrolizar a todos los betalactámicos, incluidos los inhibidores de betalactamasas y carbapenémicos. Se clasifican en Clase A: Serina carbapenemases de tipo KPC, NMC, IMI, SME, GES; Clase B: Metalobetalactamasas tipo VIM, IMP, NDM y Clase D: Serina carbapenemases (Oxacilinasas) OXA-23, OXA-24/40, OXA-48, OXA-163, entre otras.⁽²⁾

En 2017, la Organización Mundial de la Salud (OMS) publica una lista de “patógenos prioritarios” entre los que se encuentran los Enterobacterales

productores de carbapenemasas (EPC) los cuales ocupan el nivel de prioridad crítica para el desarrollo de nuevos antibióticos y el fortalecimiento de la vigilancia e investigación pues la rápida expansión de estos patógenos, así como de los genes que codifican estas enzimas, ha causado brotes nosocomiales y situaciones endémicas generando un importante problema de salud pública global.^(2,3,4)

En América Latina, la Organización Mundial de la Salud/Organización Panamericana de la Salud (OMS/OPS), emitió una primera alerta en 2010, seguida de otras cuatro advertencias epidemiológicas debido al incremento de esta amenaza asociada a elevadas tasas de morbilidad y mortalidad y costos sanitarios.⁽⁵⁻⁷⁾ Esto resalta la necesidad de un diagnóstico microbiológico oportuno y certero.

El diagnóstico microbiológico de EPC es complejo, ya que estos microorganismos pueden mostrar únicamente una reducción de la sensibilidad a carbapenémicos, dificultando su detección mediante métodos automatizados que poseen baja sensibilidad y especificidad, especialmente con inóculos bajos. Por ello, los métodos moleculares, como la PCR en tiempo real se consideran indispensables para su confirmación y notificación.⁽⁸⁾ No obstante, su alto costo, requerimientos técnicos y de infraestructura restringen su uso en los laboratorios de la red nacional.⁽⁹⁾

Dados los importantes beneficios que se derivan de proporcionar un resultado rápido de la resistencia a carbapenémicos existen técnicas que ofrecen elevada especificidad y sensibilidad una vez evaluadas en muestras que proceden de la población en estudio.^(1,3) En este sentido los métodos inmunocromatográficos, son de gran utilidad para la detección oportuna de carbapenemasas y permiten una detección rápida y específica de varios tipos genéticos de éstas (KPC, NDM,

VIM, IMP, OXA-48, OXA-163), mediante anticuerpos monoclonales acoplados a nanopartículas de oro en membranas de nitrocelulosa.⁽¹⁰⁾

Como alternativa también existen pruebas fenotípicas mediante el uso de tabletas o discos combinados con inhibidores específicos de carbapenemasas que permiten la detección y diferenciación de dos familias, las serincarbapenemasas (clase A) y las metalobetalactamasas (MBL, clase B). Sin embargo, tienen como inconveniente de que no distinguen los tipos genéticos de carbapenemasas dentro de las familias.⁽¹¹⁾

En Cuba, la emergencia de carbapenemasa tipo KPC desde 2010 según el reporte del Laboratorio Nacional de Referencia de Infecciones Asociadas a la Atención Sanitaria (LNR-IAAS) del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” (IPK), la aparición y diseminación, durante el periodo de 2016-2021 de la carbapenemasa tipo NDM en Enterobacterales pone de relieve la importancia de la vigilancia continua de la resistencia a los carbapenémicos y el mecanismo enzimático relacionado en los centros de atención médica.⁽¹²⁾

Con vistas a mejorar la vigilancia de carbapenemasas en aislados cubanos a nivel hospitalario, la presente investigación, basa su estudio en la evaluación de la eficacia diagnóstica de dos métodos comerciales, KPC-MBL Confirm ID Pack (ROSCO, Dinamarca) y RESIST-3.O.K.N. (CORIS, BioConcept, Bélgica) en comparación con el método de PCR en tiempo real, el cual, además, permite conocer los genotipos circulantes. Este estudio pretende con su alcance proponer alternativas útiles para el diagnóstico en la red de laboratorios de microbiología, que no cuenta con acceso a métodos moleculares, garantizando de ese modo, la efectividad de la terapia antimicrobiana y el control sobre la diseminación del fenómeno de la resistencia.⁽¹³⁾

Métodos

Se realizó un estudio observacional, de corte transversal retrospectivo que incluyó 100 aislados clínicos de Enterobacteriales resistentes a carbapenémicos, pertenecientes a la colección de cultivo del LNR-IAAS del IPK. Los aislados fueron obtenidos entre enero 2015 y diciembre de 2018, y procedían de 11 hospitales ubicados en ocho provincias del país: Pinar del Río, La Habana, Matanzas, Cienfuegos, Sancti Spíritus, Camagüey, Santiago de Cuba y Guantánamo que contribuyeron con la vigilancia nacional de carbapenemasas en el periodo de estudio.

Se adoptaron como criterios de inclusión todos los aislados confirmados como Enterobacteriales resistentes a carbapenémicos mediante pruebas de susceptibilidad antimicrobiana acorde a los criterios del Instituto de estándares clínicos y de laboratorio (*CLSI*, por sus siglas en Inglés) de 2018.⁽¹⁴⁾ Se excluyeron los aislados no viables, contaminados; o que carecían de información clínico epidemiológica esencial en el formulario de recolección de datos.

La mayor parte de las especies bacterianas incluidas correspondieron al género *Klebsiella* (n=54), incluyendo *Klebsiella pneumoniae* (n=48), *K. aerógenes* (n=3), *K. ornithinolytica* (n=2) y *K. terrigena* (n=1). Además, se aislaron *Escherichia coli* extraintestinal (n=15), *Morganella morganii* (n=3), *Enterobacter cloacae* (n=12) *Citrobacter freundii* (n=4), *Citrobacter koserii* (n=4), *Proteus vulgaris* (n=4) y *Serratia marcescens* (n=4).

Aplicación del método fenotípico de tabletas combinadas (ROSCO)

A cada aislado se le aplicó el método fenotípico comercial KPC-MBL Confirm ID Pack (ROSCO, Dinamarca), siguiendo las instrucciones del fabricante.

A partir de cultivos puros de 18- 24 horas en agar MacConkey, se preparó un inóculo en 3 mL de solución salina estéril, con una turbidez ajustada a 0,5 de la escala McFarland (10^8 - 10^9 UFC/mL), utilizando un densitómetro (Densimat, bioMérieux, Francia). La suspensión se sembró por hisopado uniforme sobre agar Müeller-Hinton en tres direcciones. Luego se aplicaron las tabletas: Meropenem (MRP10), Meropenem + DPA (MRP-DPA), Meropenem + PBO (MRP-PBO), Meropenem + Cloxacilina (MRP-CX) y Temocilina (30 µg). Las placas se incubaron a 37 °C durante 18 - 24 horas. La interpretación se realizó comparando los halos de inhibición del disco de meropenem solo con los discos combinados:

- MRP-DPA $\geq$ 5 mm respecto a MRP10: indicativo de metalobetalactamasa (MBL).
- MRP-PBO $\geq$ 4 mm: indicativo decarbapenemasa tipo KPC
- MRP-CX $\geq$ 4 mm: indicativo de hiperproducción de AmpC.
- Temocilina sin halo: sospecha de producción de OXA –48.

Aplicación del método inmunocromatográfico RESIST- 3.0.K.N

Se utilizó el estuche comercial RESIST- 3.0.K.N (CORIS, BioConcept, Bélgica) para la detección de carbapenemasas tipo OXA-48, KPC y NDM. La prueba se aplicó a los 71 aislados, de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Interpretación de resultados

Negativo: solo línea de control (C) visible.

Positivo: presencia de línea en C más una línea adicional en O (OXA-48), K (KPC) o N (NDM).

Combinaciones: más de una línea positiva sugiere coexpresión de varios genes.

Inválido: ausencia de línea de control

Detección molecular de carbapenemasas (PCR en tiempo real)

La caracterización genotípica se realizó mediante PCR en tiempo real, considerada método de referencia. Se emplearon los estuches comerciales MDR MBL (VIM, IMP, NDM) Real-TM y MDR KPC/OXA- 48 Real-TM (Sacace Biotechnologies, Italy), dirigidos a los genes *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM} y *bla*_{IMP}.⁽¹⁵⁾

La extracción del ADN se realizó con el estuche QIAamp DNA Mini Handbook (Quiagen, Holanda), incluyendo controles positivos (*K. pneumoniae* ATCC BAA - 1705 – MHT y *Acinetobacter soli* DQ244), y negativos (*K. pneumoniae* ATCC BAA- 1706, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853)

Evaluación del desempeño de los métodos tableta combinada ROSCO y RESIST 3 0.K.N

Dada la predominancia del gen NDM y la baja circulación de KPC y ↓ OXA-48 en Cuba, se evaluó la capacidad de ambos métodos para detectar metalobetalactamasas. Se utilizó como estándar de referencia la PCR en tiempo real implementado en el LNR-IAAS. Un resultado positivo del estuche comercial ROSCO o CORIS-RESIST-3.0.K.N para metalobetalactamasa se asoció con la producción de carbapenemasas y tipo de esta, según dicho resultado y un resultado negativo se asoció con la no producción de carbapenemasas.

Los resultados fueron clasificados como:

Verdadero positivo (VP): concordancia positiva con PCR

Falso positivo (FP): positivo en método, negativo en PCR

Verdadero negativo (VN): concordancia negativa con PCR

Falso negativo (FN): negativo en método, positivo en PCR

A partir de estas clasificaciones se calculó:

Sensibilidad (S) = $VP / (VP + FN)$

Especificidad (E) = $VN / (VN + FP)$

Valor predictivo positivo (VPP) = $VP / (VP + FP)$

Valor predictivo negativo (VPN) = $VN / (VN + FN)$

Se calculó los intervalos de confianza (IC 95 %) para cada parámetro.

La concordancia entre los resultados de ROSCO y RESIST-3 O.K.N. respecto a la PCR se evaluó mediante el índice de Kappa (κ). Se aplicó la escala de Landis y Koch:⁽¹⁶⁾

- $\kappa < 0,40$: débil
- $0,41-0,60$: moderada
- $0,61-0,80$: buena
- $0,80$: muy buena

Control de calidad: Todos los procedimientos incluyeron controles positivos y negativos.

Conflicto de intereses: No se declararon conflictos de interés con fabricantes ni distribuidores de los estuches comerciales empleados.

Resultados

La caracterización de los 100 aislados clínicos de Enterobacterales resistentes a carbapenémicos, recuperados de pacientes atendidos en diferentes hospitales cubanos mediante estudios fenotípicos y moleculares confirmó 71 (71,0 %)

aislados productores de carbapenemasas, correspondiéndose un 87,3 % a las metalobetalactamasas, seguidas de las serincarbapenemasas (12,67 %).

La genotipificación mediante PCR en tiempo real permitió, además de confirmar la producción de carbapenemasas, la identificación de los tipos genéticos de estas enzimas. Los 71 aislados productores, portaban el gen *bla_{NDM}*. Adicionalmente, se detectó la coexpresión con otros genes: *bla_{KPC}* en 12,7 % (9/71) y *bla_{VIM}* en 9,9 % (7/71).

En total, el 22,5% de los aislados (16/71) expresaron múltiples carbapenemasas, distribuidos en: combinación *bla_{NDM} + bla_{KPC}* en 11,3 % (8/71), *bla_{NDM} + bla_{VIM}* en 8,4 % (6/71), y *bla_{NDM} + bla_{KPC} + bla_{VIM}* en 1,4 % (1/71).

El ensayo ROSCO con tabletas combinadas reveló 71 aislados productores de carbapenemasas mientras que el ensayo inmunocromatográfico identificó 69 aislados positivos.

Dada la ausencia de aislamientos productores de OXA-48 y la baja frecuencia de KPC en los aislados estudiados, no fue posible evaluar la eficacia de estos métodos para la detección de dichas enzimas.

Al evaluar la eficacia del método ROSCO vs PCR en tiempo real los resultados de los parámetros de desempeño (Tabla1), mostraron una especificidad de 100,00 % (29/29) y una sensibilidad de 100,00 % (71/71), con VPP (100,00 %) y VPN (100,00 %). El índice de Kappa fue de 1,00, lo cual indica una concordancia muy buena con respecto al método de referencia, según la clasificación de Landis y Koch.

Tabla 1- Evaluación del desempeño del método de tabletas combinadas ROSCO, para diagnóstico de metalobetalactamasas en Enterobacterales. Instituto “Pedro Kouri”, 2015- 2018

Parámetros	Valor	IC (95 %)
Sensibilidad	100,00 %	99,30-100,00
Especificidad	100,00 %	98,28-100,00
VPP	100,00 %	99,30-100,00
VPN	100,00 %	98,28-100,00
Índice de Kappa	1,00	1,00-1,00

Leyenda: Valor predictivo positivo (VPP), Valor predictivo negativo (VPN), intervalo de confianza (IC).

En la tabla 2 se muestran los resultados de la evaluación del desempeño del método inmunocromatográfico Coris RESIST-3 O.K.N.

Tabla 2- Evaluación del desempeño del método inmunocromatográfico Coris RESIST 3 O.K.N., para diagnóstico de metalobetalactamasas en enterobacterias. Instituto “Pedro Kouri”, 2015-2018

Parámetros	Valor	IC (95%)
Sensibilidad	90,14 %	82,50-97,78
Especificidad	100,00 %	98,28-100,00
VPP	100,00 %	99,22-100,00
VPN	80,56 %	66,24-94,87
Índice de Kappa	0,84	0,72-0,95

Leyenda: VPP (Valor predictivo positivo), VPN (Valor predictivo negativo), IC (Intervalo de confianza).

Se observó una elevada una especificidad (100 %) y una sensibilidad de 90,14 %. El VPP alcanzó 100 %, mientras que el VPN fue de 80,56 %. El índice de kappa fue de 0,84, lo que refleja muy buena concordancia con la PCR.

Discusión

Las bacterias pertenecientes a la familia Enterobacterales representan una causa frecuente de infecciones tanto a nivel comunitario como hospitalario, debido a sus múltiples mecanismos de patogenicidad y la creciente resistencia antimicrobiana que presentan.⁽¹⁷⁾ Entre los mecanismos de resistencia más preocupantes se encuentra la producción de carbapenemasas, enzimas que confieren resistencia a los carbapenémicos y que han emergido globalmente desde finales de los años noventa. Estos genes suelen localizarse en elementos genéticos móviles como plásmidos, transposones e integrones, facilitando la diseminación horizontal entre especies y la aparición de cepas extremadrogorresistentes (XDR) o pandrogorresistentes (PDR).⁽¹⁸⁾

La elevada mortalidad asociada a infecciones por EPC y su impacto en los costos del sistema de salud, justifican la necesidad urgente de implementar métodos diagnósticos eficaces y accesibles en los hospitales cubanos. Si bien las técnicas moleculares como la PCR en tiempo real son consideradas el estándar de referencia para la detección de estos mecanismos de resistencia,⁽¹⁹⁾ su elevado costo y complejidad limitan su implementación rutinaria en todos los niveles de la Red Nacional de Laboratorios de Microbiología.

Por ello, este estudio evaluó dos métodos alternativos de diagnóstico: el método fenotípico ROSCO y la prueba inmunocromatográfica Coris RESIST-3 O.K.N., ambos aplicables a las condiciones locales. En cuanto al método ROSCO, se destacó su facilidad de interpretación frente a otros métodos fenotípicos como los ensayos de sinergia con EDTA o ácido borónico, los cuales son más dependientes de la pericia técnica y condiciones operativas del laboratorio. Este

método también se caracteriza por la interpretación de resultados luego de 18 a 24 horas de la realización y detecta metalobetalactamasas, pero no discrimina en cuanto a los tipos de las mismas.⁽²⁰⁾

Estudios previos en Europa reportaron valores de sensibilidad y especificidad variables con este método, entre 90 % y 100 %, especialmente, para carbapenemasas de clase A. Aguirre y colaboradores informaron sensibilidades del 92,1 % y especificidades del 82,5 % en España,⁽²¹⁾ mientras que Pantel y colaboradores en Francia reportaron valores del 98,8 % y 93,1 %, respectivamente.⁽²²⁾ No obstante, otros autores como Bartolini y colaboradores han advertido sobre la posibilidad de falsos negativos cuando las enzimas se expresan a niveles bajos, lo que limita la sensibilidad del método.⁽²³⁾

Además, debe tenerse en cuenta que el ácido borónico, uno de los inhibidores usados en este ensayo, también puede inhibir β -lactamasas tipo AmpC, lo cual dificulta la identificación precisa de carbapenemasas tipo KPC.⁽²⁴⁾

En el caso del método Coris RESIST-3 O.K.N., la sensibilidad obtenida en este estudio (90,14 %) resulta aceptable y coherente con su utilidad diagnóstica. Estudios como los de Wareham y colaboradores en Reino Unido y Glupczynski y colaboradores en Bélgica reportaron sensibilidades y especificidades del 100%,^(11,25) mientras que Sa y colaboradores en Turquía también mostraron una concordancia total con la PCR en cepas de *K. pneumoniae*.⁽²⁶⁾

La simplicidad de uso, no requiriendo personal calificado, rapidez y bajo costo de esta prueba (<15 USD por muestra), así como su aplicabilidad a situaciones de brote, la convierten en una herramienta diagnóstica valiosa. Además, versiones mejoradas como RESIST-5 O.O.K.N.V., que incluyen detección de VIM y OXA-163, han demostrado sensibilidades entre 97 % y 100 % y especificidad del 100%.⁽²⁷⁾

El presente estudio también permitió caracterizar los tipos genéticos de carbapenemasas presentes en Cuba. La enzima NDM fue identificada en el 100 % de los aislados, confirmando su predominancia y expansión en el país. Esta enzima, reportada por primera vez en 2008 en India y detectada en América desde 2010, motivó una alerta epidemiológica regional por parte de la OPS/OMS en 2011 debido a su rápida diseminación y alto impacto clínico.⁽⁷⁾

En Cuba, fue reportada inicialmente en *Acinetobacter soli* en 2012⁽¹²⁾ y su detección en todas las cepas estudiadas sugiere una consolidación epidemiológica preocupante. Por otra parte, estos resultados ratifican la capacidad de los mecanismos de resistencia de transmisión plasmídica de compartir la información genética con otras especies y familias de bacterias, lo que facilita su propagación clonal y geográfica.⁽²⁸⁾

También se detectaron combinaciones de genes: NDM + KPC (11,3 %), NDM + VIM (8,5 %) y NDM + VIM + KPC (1,4 %), lo que demuestra la capacidad de transferencia plasmídica y la existencia de cepas multirresistentes. Estos hallazgos ratifican a *K. pneumoniae* como el principal reservorio y vehículo de diseminación de estos genes en hospitales cubanos.

La carbapenemasa KPC, aunque con baja prevalencia, mostró presencia en un 12,7 % de los aislados. Esto es coherente con su epidemiología en América Latina y el Caribe, donde es la enzima predominante.⁽²⁹⁾

De forma novedosa, este estudio reporta por primera vez en Cuba la presencia del gen blaVIM en Enterobacterales, hallado en siete aislados (cuatro *K. pneumoniae*, dos *K. aerogenes* y una *E. coli*). Las cepas de *K. pneumoniae* fueron aisladas en un mismo hospital, lo que sugiere un brote hospitalario o evento de transmisión clonal. Si bien esta enzima es más frecuente en bacilos no fermentadores como *P. aeruginosa*,⁽³⁰⁾ su aparición en Enterobacterales alerta sobre la necesidad de

reforzar la vigilancia de carbapenemasas en todas las especies gramnegativas multirresistentes, incluyendo *Acinetobacter baumannii* y *Stenotrophomonas maltophilia*.

Como limitación principal, se señala que no fue posible evaluar el rendimiento de los métodos diagnósticos frente a cepas productoras de carbapenemasas tipo OXA-48 y KPC, dado su bajo número o ausencia en la muestra. Sin embargo, ambas enzimas tienen amplia distribución internacional ⁽³¹⁾ y su potencial introducción en Cuba justifica una vigilancia activa y una preparación diagnóstica adecuada.

En resumen, la detección de carbapenemasas NDM, KPC y la emergencia de VIM en Enterobacterales aisladas en hospitales cubanos constituye una alerta epidemiológica relevante. Los métodos ROSCO y RESIST-3 O.K.N. demostraron ser herramientas diagnósticas útiles, de implementación factible en la Red Nacional de Laboratorios de Microbiología. Su uso permitiría mejorar la vigilancia microbiológica, optimizar el tratamiento antimicrobiano y aplicar con mayor eficacia las medidas de control de infecciones para mitigar la diseminación de estas bacterias multirresistentes.

Referencias bibliográficas

1. Soria CG. Caracterización clínica, epidemiológica y factores de riesgo para la infección/colonización por Enterobacterales productores de carbapenemasa [Tesis de Doctorado; en Internet]. Granada: Universidad de Granada; 2021 [citado 20/01/2022]. Disponible en: <https://digibug.ugr.es/handle/10481/71419>
2. Alvisi G, Curtoni A, Fonnesu R, Piazza A, Signoretto C, Piccinini G, et al. Epidemiology and genetic traits of carbapenemase-producing Enterobacterales: a

global threat to human health. *Antibiotics*. 2025 [citado 21/06/2025]; 14(2):141. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/antibiotics14020141>

3. El Kettani A, Maaloum F, Nzoyikorera N, Khalis M, Katfy K, Belabbes H, *et al*. Evaluation of the performances of the rapid test Resist-5 OOKNV used for the detection of carbapenemase-producing Enterobacterales. *Antibiotics*. 2021 [citado 21/01/2022]; 10(8):953. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/antibiotics10080953>

4. Meda M, Weinbren M, Nagy C, Gentry V, Gormley M. Polymicrobial outbreak of carbapenemase-producing Enterobacterales managed using universal admission and discharge screening and a water-safe built environment. *J Hosp Infect*. 2025 [citado 10/07/2025]; 156:1-12. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2024.11.016>

5. Thomas GR, Corso A, Pasterán F, Shal J, Sosa A, Pillionetto M, *et al*. Increased detection of carbapenemase-producing Enterobacterales bacteria in Latin America and the Caribbean during the COVID-19 pandemic. *Emerg Infect Dis*. 2022 [citado 03/05/2024]; 28(11):e220415. Disponible en: <https://doi.org/10.3201/eid2811.220415>

6. García-Betancur JC, Appel TM, Esparza G, Gales AC, Levy-Hara G, Cornistein W, *et al*. Update on the epidemiology of carbapenemases in Latin America and the Caribbean. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2021 [citado 03/05/2024]; 19(2):197-213. Disponible en: <https://doi.org/10.3201/eid2811.220415>

7. Pan American Health Organization/World Health Organization. Alerta epidemiológica: Emergencia e incremento de nuevas combinaciones de carbapenemasas en Enterobacterales en Latinoamérica y el Caribe, 22 Octubre 2021 [Internet]. Washington, D.C.: PAHO/WHO; 2021 [citado 25/05/2024]. Disponible en: <https://www.paho.org/sites/default/files/2023-08/2021-octubre-phe-alerta-epi-carbapenamasassp.pdf>

8. Yoshioka N, Hagiya H, Deguchi M, Hamaguchi S, Kagita M, Nishi I, *et al.* Multiplex real-time PCR assay for six major carbapenemase genes. *Pathogens*. 2021 [citado 15/06/2023]; 10(3):276. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/pathogens10030276>
9. Hassall J, Coxon C, Patel VC, Goldenberg SD, Sergaki C. Limitations of current techniques in clinical antimicrobial resistance diagnosis: examples and future prospects. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2024 [citado 10/07/2025]; 2(1):16. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s44259-024-00033-8>
10. Wareham DW, Abdul Momin MHF. Rapid detection of carbapenemases in Enterobacteriaceae: evaluation of the Resist-3 OKN (OXA-48, KPC, NDM) lateral flow multiplexed assay. *J Clin Microbiol*. 2017 [citado 21/02/2022]; 55(4):1223-5. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/JCM.02471-16>
11. Liu Xm, Wu Yx, Li Xh, Shang Jw, Xu Wn, Xu Ns, *et al.* Phenotypic detection and drug resistance analysis of carbapenem-resistant gram-negative bacilli. *J Clin Lab Anal*. 2025 [citado 10/07/2025]; 39(9):e70038. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jcla.70038>
12. Yu H, González MK, Carmona Y, Hart M, Aung MS, Kobayashi N, Quiñones D. Multicenter study of carbapenemase-producing Enterobacterales in Havana, Cuba, 6–2021. *Antibiotics*. 2022 [citado 10/06/2024]; 11:514. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040514>
13. Park SH, Yi Y, Suh W, Ji SK, Han E, Shin S. The impact of enhanced screening for carbapenemase-producing Enterobacterales in an acute care hospital in South Korea. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2023 [citado 10/07/2025]; 12(1):62. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13756-023-01270-8>
15. Weinstein MP, Lewis JS. The Clinical and Laboratory Standards Institute Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing: Background, Organization,

Functions, and Processes. J Clin Microbiol. 2020;58:10.

<https://doi.org/10.1128/jcm.01864-19>

16. Lund M, Petersen MB, Jørgensen AL, Paulmann D, Wang M. Rapid real-time PCR for the detection of IMP, NDM, VIM, KPC, and OXA-48 carbapenemase genes in isolates and spiked stool samples. Diagn Microbiol Infect Dis. 2018 Sep;92(1):8-12. <https://doi:10.1016/j.diagmicrobio.2018.04.002>. Epub 2018 Apr 13. PMID: 29776709

17. Cortés É, Rubio JA, Gaitán H. Métodos estadísticos de evaluación de la concordancia y la reproducibilidad de pruebas diagnósticas. Rev Colomb Obstet Ginecol. 2010 [citado 10/02/2022]; 61(3):247-55. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcog/v61n3/v61n3a09.pdf>

18. European Centre for Disease Prevention and Control. Carbapenem-resistant Enterobacterales—third update [Internet]. Stockholm: ECDC; 2025 [citado 5/04/2025]. Disponible en: <https://doi.org/10.2900/8752612>

19. Urzua MM, Aquino A, Castelan JA, Merida J, Ribas RM, Belmont L, *et al.* Detection of carbapenemases in Enterobacterales and other Gram-negative bacilli recovered from hospital and municipal wastewater in Mexico City. Sci Rep. 2024 [citado 08/07/2025]; 14(1):26576. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-76824-w>

20. World Health Organization (WHO). Global antimicrobial resistance surveillance system (GLASS): molecular methods for antimicrobial resistance (AMR) diagnostics to enhance the global antimicrobial resistance surveillance system [Internet]. Geneva: WHO; 2019 (WHO/WSI/AMR/2019.1) [citado 08/07/2025]. Disponible en: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/310993/WHO-WSI-AMR-2019.1-eng.pdf?sequence=1>

21. Liang B, Chen Y, Liang Z, Li X, Cai H, Lai H, *et al.* Molecular characteristics and evaluation of the phenotypic detection of carbapenemases among

- Enterobacterales and Pseudomonas via whole genome sequencing. *Front Cell Infect Microbiol.* 2024 [citado 10/06/2025]; 14:1357289. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1357289>
22. Aguirre A, Martínez L. Non-molecular detection of carbapenemases in Enterobacteriaceae clinical isolates. *J Infect Chemother.* 2017 [citado 21/02/2022]; 23(1):1-11. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2016.09.008>
23. Pantel A, Souzy D, Sotto A, Lavigne JP. Evaluation of two phenotypic screening tests for carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* 2015 [citado 21/02/2022]; 53(10):3359-62. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/JCM.01211-15>
24. Bartolini A, Frasson I, Cavallaro A, Richter SN, Palù G. Comparison of phenotypic methods for the detection of carbapenem non-susceptible Enterobacteriaceae. *Gut Pathogens.* 2014 [citado 21/02/2022]; 6(1):13. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/1757-4749-6-13>
25. Krajewska J, Chyży P, Durka K, Wińska P, Krzyśko KA, Luliński S, *et al.* Aromatic diboronic acids as effective KPC/AmpC inhibitors. *Molecules.* 2023 [citado 10/05/2024]; 28(21):7362. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules28217362>
26. Glupczynski Y, Jousset A, Evrard S, Bonnin RA, Huang TD, Dortet L, *et al.* Prospective evaluation of the OKN K-SeT assay, a new multiplex immunochromatographic test for the rapid detection of OXA-48-like, KPC, and NDM carbapenemases. *J Antimicrob Chemother.* 2017 [citado 21/02/2022]; 72(7):1955-60. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jac/dkx089>
27. Sağıroğlu P, Hasdemir U, Gelmez GA, Aksu B, Karatuna O, Söyletir G. Performance of “RESIST-3 OKN K-SeT” immunochromatographic assay for the detection of OXA-48-like, KPC, and NDM carbapenemases in *Klebsiella*

pneumoniae in Turkey. Braz J Microbiol. 2018 [citado 21/02/2022]; 49:885-90.

Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.02.002>

28. Kettani A, Maaloum F, Nzoyikorera N, Khalis M, Katfy K, Belabbes H, *et al.* Evaluation of the performances of the rapid test RESIST-5 O.O.K.N.V. used for the detection of carbapenemase-producing Enterobacterales. Antibiotics. 2021; 10(8):953. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/antibiotics10080953>

29. Ahmed SK, Hussein S, Qurbani K, Ibrahim RH, Fareeq A, Mahmood KA, *et al.* Antimicrobial resistance: impacts, challenges, and future prospects. J Med Surg Public Health. 2024 [citado 10/05/2025]; 2:100081. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.glmedi.2024.100081>

30. Erazo Bravo JD. Klebsiella pneumoniae resistente a los carbapenémicos en infecciones intrahospitalarias, una revisión en Latinoamérica. Salud, Ciencia y Tecnología. 2023 [citado 05/10/2024]; 3:478. Disponible en: <https://doi.org/10.56294/saludcyt2023478>

31. Zhao L, Pu J, Liu Y, Cai H, Han M, Yu Y, *et al.* High prevalence of carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa and identification of a novel VIM-type metallo- β -lactamase, VIM-92, in clinical isolates from northern China. Front Microbiol. 2025 [citado 10/07/2025]; 16:1543509. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1543509>

32. Boyd SE, Holmes A, Peck R, Livermore DM, Hope W. OXA-48-like β -lactamases: global epidemiology, treatment options, and development pipeline. Antimicrob Agents Chemother. 2022 [citado 15/03/2023]; 66(8):e00216-22. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/aac.00216-22>

Conflicto de intereses

No se declaran conflictos de intereses.

Contribución de los autores

Conceptualización: Dianelys Quiñones Pérez.

Curación de datos: Jonnathan Gerardo Ortiz Tejedor, Dianelys Quiñones Pérez

Análisis formal: Jonnathan Gerardo Ortiz, Mislady Rodríguez Ortega

Adquisición de fondos: Dianelys Quiñones Pérez.

Investigación: Jonnathan Gerardo Ortiz, Dianelys Quiñones Pérez

Metodología: Jonnathan Gerardo Ortiz, Dianelys Quiñones Pérez, Yenisel Carmona Cartaya.

Administración de proyecto: Dianelys Quiñones Pérez.

Recursos: Dianelys Quiñones Pérez.

Supervisión: Dianelys Quiñones Pérez.

Validación: Jonnathan Gerardo Ortiz, Yenisel Carmona Cartaya, Mislady Rodríguez Ortega

Visualización: Dianelys Quiñones Pérez, Mislady Rodríguez Ortega

Redacción del borrador original: Dianelys Quiñones Pérez