

Comparación de dos métodos comerciales para la determinación de la concentración mínima inhibitoria de meropenem en *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC

Comparison of two commercial methods for determination of the minimum inhibitory meropenem concentration in KPC carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*

Claudia Soria-Segarra^{1*} <https://orcid.org/0000-0003-0896-6291>

María de Lourdes Berrezueta¹ <https://orcid.org/0000-0003-45540556>

Josselyn Calderón¹ <https://orcid.org/0000-0002-5023-3537>

José E. Villacís^{1,2,3} <https://orcid.org/0000-0003-1478-5374>

Carmen Soria-Segarra⁴ <https://orcid.org/0000-0003-3099-3480>

Dianelys Quiñones⁵ <https://orcid.org/0000-0003-4506-6890>

¹Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública “Leopoldo Izquieta Pérez”. Departamento de investigación, desarrollo e innovación. Guayaquil. Ecuador.

²Centro Nacional de Referencia en Resistencia Antimicrobiana. Quito, Ecuador.

³Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Medicina. Quito, Ecuador.

⁴Universidad Católica Santiago de Guayaquil, Facultad de Ciencias Médicas. Ecuador.

⁵Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”. La Habana, Cuba.

* Autor para la correspondencia: claudia.soria.s@gmail.com

RESUMEN

Introducción: El tratamiento de las infecciones por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC es complicado debido a las escasas opciones terapéuticas existentes, lo cual obliga a optimizar los esquemas terapéuticos disponibles.

Objetivo: Determinar la concordancia de la tarjeta AST-N272 del Sistema Vitek 2 Compact y las tiras M.I.C.ETM Evaluator con la dilución en agar para la determinación de la concentración mínima inhibitoria del meropenem en *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC.

Métodos: Se estudiaron 53 aislados de *K. pneumoniae bla_{KPC}* positivas no clonales, provenientes de hisopados rectales recolectados en diferentes unidades hospitalarias de Guayaquil, Ecuador, entre enero a junio de 2016. Se determinó la concentración mínima inhibitoria de meropenem por dilución en agar (método de referencia), así como por el sistema Vitek 2 Compact (AST-N272) y las tiras M.I.C.ETM. Se determinó la CMI 50, CMI 90 y la concordancia esencial.

Resultados: El rango de la CMI de meropenem de los aislados estudiados fue de 1 a ≥ 32 $\mu\text{g/mL}$, con una $\text{CMI}_{50} = 4$ $\mu\text{g/mL}$ y una $\text{CMI}_{90} = \geq 32$ $\mu\text{g/mL}$. El 86,79 % (n= 46) de los aislados tuvo una $\text{CMI} \leq 8$ $\mu\text{g/mL}$. Se observó un 94,33 % de concordancia esencial con las tiras M.I.C.ETM, mientras que la tarjeta AST-N272 mostró una concordancia esencial inferior al 50 %.

Conclusiones: Los resultados sugieren posibles implicaciones en el tratatamiento del paciente, pues reduce opciones terapéuticas en contextos de difícil manejo. Además, resaltan la necesidad de la confirmación de la resistencia a carbapenémicos mediante el método de Kirby Bawer en aquellos laboratorios que tienen métodos automatizados para estudios de susceptibilidad.

Palabras clave: carbapenemasa; meropenem; concentración mínima inhibitoria; Vitek 2 Compact; concordancia esencial.

ABSTRACT

Introduction: The treatment for KPC carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* infections is complicated, due to the scant therapeutic options available, which forces us to optimize the therapies at hand.

Objective: Determine the agreement between the AST-N272 card of the Vitek 2 Compact system and the M.I.C.E.TM Evaluator strips, and the agar dilution method for determination of the minimum inhibitory meropenem concentration in KPC carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*.

Methods: A study was conducted of 53 positive non-clonal *K. pneumoniae bla_{KPC}* isolates from rectal swabs collected at several hospitals in Guayaquil, Ecuador, from January to June 2016. Minimum inhibitory meropenem concentration was determined by agar dilution (reference method), the Vitek 2 Compact system (AST-N272) and M.I.C.E.TM strips. Determination was made of MIC 50, MIC 90 and essential agreement.

Results: The meropenem MIC range for the isolates studied was 1 to ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$, with $\text{MIC}_{50} = 4$ $\mu\text{g/ml}$ and $\text{MIC}_{90} = \geq 32$ $\mu\text{g/ml}$. In 86.79% (n= 46) of the isolates MIC was ≤ 8

µg/ml. Essential agreement was 94.33% with the M.I.C.E.TM strips and under 50% with the AST-N272 card.

Conclusions: The results obtained suggest potential implications for the treatment of patients, since therapeutic options are reduced in difficult management contexts. They also highlight the need for confirmation of carbapenem resistance by the Kirby-Bauer procedure in laboratories equipped with automated methods for susceptibility studies.

Keywords: carbapenemase; meropenem; minimum inhibitory concentration; Vitek 2 Compact; essential agreement.

Recibido: 12/11/2019

Aceptado: 11/07/2020

Introducción

Las infecciones causadas por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC (KPC) constituyen un grave problema de salud pública por las altas tasas de morbilidad y mortalidad asociadas, su poder de diseminación y el incremento en los costos y estadías hospitalarias.^(1,2)

El tratamiento de las infecciones por KPC es complicado debido a las escasas opciones terapéuticas existentes. Ceftazidima/avibactam y meropenem/vaborbactam, fármacos de reciente aprobación, son las mejores opciones terapéuticas disponibles actualmente, sin embargo no se comercializan todavía en algunos países de América del Sur^(3,4) y resultan muy costosos para países de bajos y medianos ingresos.

La falta de consenso y las pocas opciones de antimicrobianos disponibles para el tratamiento de las infecciones por KPC, obliga en ciertas regiones a optimizar los esquemas terapéuticos disponibles. Los esquemas combinados que incluyen carbapenemes (meropenem y doripenem) a dosis altas junto con colistina y tigeciclina han demostrado, muy buena eficacia clínica con reducción de la mortalidad en infecciones causadas por KPC cuando la concentración mínima inhibitoria (CMI) del carbapenem es ≤ 8 µg/mL.^(5,6,7,8,9,10) Por lo tanto, el meropenem constituye una alternativa válida en ciertas regiones donde los nuevos antibióticos no están disponibles, sin embargo, su uso depende de la CMI del microorganismo aislado.

El uso de sistemas automatizados para las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana se ha generalizado en América Latina. Sin embargo, a pesar de su uso extendido en diversas regiones, existen reportes de falta de precisión para la determinación de la susceptibilidad de diversos microorganismos para ciertos antimicrobianos, entre ellos los carbapenémicos.^(11,12,13)

Por todo lo anterior y unido a la falta de consenso en los esquemas terapéuticos, la no disponibilidad comercial de las nuevas drogas y el incremento de la resistencia a tigecilina y colistina^(14,15) en patógenos productores de carbapenemasas, nos propusimos como objetivo estudiar la concordancia de la tarjeta AST-N272 del Sistema Vitek 2 Compact (BioMérieux Inc, Francia) y las tiras M.I.C.ETM Evaluator (Oxoid, Reino Unido), con la dilución en agar para la determinación de la CMI del meropenem en *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC.

Métodos

Aislados bacterianos

Se estudiaron 53 aislados no clonales de *Klebsiella pneumoniae* *bla*_{KPC} positivo, provenientes de hisopados rectales recolectados en diferentes unidades hospitalarias públicas y privadas de segundo y tercer nivel de atención de la ciudad de Guayaquil, Ecuador, durante el período comprendido entre enero a junio de 2016. La determinación del gen *bla*_{KPC} se realizó por reacción en cadena de la polimerasa con metodología previamente descrita.⁽¹⁶⁾

Susceptibilidad antimicrobiana

La CMI de meropenem por dilución en agar y con las tiras M.I.C.ETM (Oxoid, Reino Unido) se realizó en el Centro Nacional de Referencia de Bacteriología del INSPI-LIP. Los análisis con el Sistema Vitek 2 Compact (BioMérieux Inc, Francia) (V2C) se realizaron en el laboratorio de bacteriología del Hospital “Dr. Abel Gilbert Ponton” (Equipo 0000148FF9E0. Versión 07.01) con la tarjeta AST-N272 (lote 682380010).

Dilución en agar: Se realizó por triplicado según metodología del *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI M07-A8).⁽¹⁷⁾ Se utilizó meropenem trihidrato en grado analítico (Sigma-Aldrich Lote SZBF160XV) y agar Mueller-Hinton (Becton Dickinson, Reino

Unido). El rango de concentraciones utilizado fue de 0,06 µg/mL a 32 µg/mL. Las placas se prepararon y almacenaron a 4 °C, utilizándose dentro de las 48 h.

Difusión por gradiente: La CMI de meropenem con las tiras M.I.C.E™ (Oxoid, Reino Unido) se realizó por duplicado siguiendo las instrucciones del fabricante utilizando agar Mueller-Hinton (Becton Dickinson, Reino Unido). El rango de concentraciones fue de 0,03 µg/mL a 32 µg/mL y para la lectura se siguieron las indicaciones del fabricante.

El inóculo bacteriano utilizado en las metodologías anteriormente descritas (dilución en agar y difusión de gradiente de concentración) se ajustó al 0,5 de la escala MacFarland utilizando el equipo DensiCheck (BioMérieux Inc, Francia).

Sistema Vitek 2 Compact: Las pruebas se realizaron por duplicado siguiendo las recomendaciones del fabricante. El inóculo bacteriano se ajustó al 0,5 de la escala MacFarland con el equipo DensiCheck (BioMérieux Inc, Francia) y posteriormente se diluyó un volumen de 145 µL de la suspensión bacteriana previamente ajustada en 3 mL de solución salina al 0,45 % siguiendo las recomendaciones del fabricante. La interpretación de las categorías (sensible, intermedio y resistente) las realizó el equipo con el sistema Experto (versión CLSI 2016).⁽¹⁸⁾

Todas las pruebas fueron realizadas por el mismo operador, las pruebas por difusión por gradiente y por el sistema V2C fueron realizadas el mismo día, con diferente inóculo.

Control de calidad

Cepa sensible a carbapenémicos: *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Cepa resistente a carbapenémico: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 1705.

Para el sistema V2C se incluyó un control diario de esterilidad de la solución salina (SS) (1 mL de SS en caldo tioglicolato incubado a 35 °C por 48 h). A las suspensiones bacterianas realizadas para el equipo V2C se les realizó control de pureza inoculando 5 µL de la suspensión bacteriana en agar tripticasa soya e incubando a 35 °C por 24 h. El control del recuento bacteriano se realizó con las cepas ATCC haciendo una dilución 1:100 de la suspensión bacteriana realizada y sembrando en agar tripticasa soya incubando a 35 °C por 24 h.

Interpretación de resultados

La dilución en agar se consideró como el método de referencia. Se definió como concordancia esencial (CE) los valores de CMI iguales o ± 1 dilución y valores de CMI \geq

16 µg/mL. Todos los aislados fueron considerados como resistentes indistintamente de su valor de CMI, según recomendaciones del CLSI.¹⁸

Aspectos éticos

Protección de personas y animales: Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni animales.

Confidencialidad de los datos: Los autores declaran que en esta publicación no aparecen datos que permitan la identificación de los pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado: Los autores declaran que en esta publicación no aparecen datos de pacientes.

Resultados

El rango de la CMI de meropenem de los aislados estudiados fue de 1 a ≥ 32 µg/mL, con una CMI₅₀ = 4 µg/mL y una CMI₉₀ = ≥ 32 µg/mL. El 86,79% (n= 46) de los aislados tuvo una CMI ≤ 8 µg/mL. En la tabla 1 se describen los valores obtenidos por triplicado por el método de referencia.

Tabla 1 - Valores de concentración mínima inhibitoria y desviación estándar de meropenem en *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC obtenida por el método de dilución en agar (n= 53)

Código de laboratorio	CMI (µg/mL)			Desviación estándar
27735	2	4	4	1,15
26681	2	2	4	1,15
27922	2	4	4	1,15
27616	2	2	2	0,00
25468	2	4	4	1,15
26028	>32	>32	>32	0,00
27297	8	16	8	4,62
26967	2	4	4	1,15
27247	1	1	2	0,58
28774	8	8	8	0,00
26317	1	1	2	0,58
26685	1	1	0,5	0,29
25100	4	4	2	1,15
26538	4	2	4	1,15
28726	4	8	4	2,31
27716	4	2	4	1,15
27057	>32	>32	>32	0,00
27854	4	2	4	1,15
28670	4	2	4	1,15
25807	>32	>32	>32	0,00
28343	>32	>32	>32	0,00
25813	2	4	4	1,15
27937	4	8	8	2,31
27306	4	4	4	0,00
25239	>32	>32	>32	0,00
25274	4	4	4	0,00
27037	1	2	2	0,58
27901	2	4	4	1,15
25758	4	4	4	0,00
25325	4	8	8	2,31
27681	4	2	2	1,15
26386	4	2	2	1,15
26984	4	2	2	1,15
27856	2	4	2	1,15
25150	4	8	8	2,31
25277	8	8	8	0,00
25092	8	8	8	0,00
25980	4	2	2	1,15
26010	>32	>32	>32	0,00
26801	>32	>32	>32	0,00
25612	8	8	8	0,00
25223	>32	>32	>32	0,00
26384	1	1	1	0,00
28159	2	4	2	1,15
27069	4	8	8	2,31
26682	2	4	2	1,15
25535	2	4	4	1,15
25798	4	2	2	1,15
25796	2	1	2	0,58
25799	1	1	2	0,58
28209	2	2	2	0,00
25318	2	2	4	1,15
25158	2	4	4	1,15

CMI: concentración mínima inhibitoria.

El sistema automatizado V2C tuvo un bajo desempeño para la determinación de la CMI de meropenem, mostrando una concordancia esencial (CE) de 15,09 % al compararlo con el método de referencia, mientras que las tiras M.I.C.ETM (Oxoid, Reino Unido) obtuvieron una CE 94,33 % (No. 50). En la tabla 2 se detallan las CMIs obtenidas por cada metodología.

Tabla 2 - Distribución de la concentración mínima inhibitoria de meropenem en *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC (n= 53)

Método	1 µg/mL	2 µg/mL	4 µg/mL	8 µg/mL	≥16 µg/mL	Total
Dilución en agar	5	14	17	9	8	53
M.I.C.E TM	5	17	14	8	8	53
Vitek 2 Compact	0	0	0	0	53	53

CMI: concentración mínima inhibitoria; KPC: *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC.

El 100 % de los aislados fueron identificados por el sistema Experto del equipo Vitek 2 Compact (BioMérieux, Francia) como sospechosas de producir carbapenemasas.

Discusión

La falta de disponibilidad de las nuevas drogas como ceftazidima/avibactam o meropenem/varvobactam para el tratamiento de bacilos gramnegativos productores de carbapenemasas en ciertas regiones, obliga a optimizar los esquemas terapéuticos disponibles.⁽⁵⁾ El meropenem constituye una opción válida cuando su CMI es ≤ 8 µg/mL en terapia combinada junto con colistina o tigeciclina para tratar infecciones por patógenos productores de KPC,^(5,6,7,8,9,10) por lo tanto un resultado confiable de una CMI de meropenem es un requisito fundamental para el tratamiento de estas infecciones.

La AST-N272 es una tarjeta de distribución regional para el V2 en América Latina. Sin embargo, existe poca evidencia del desempeño de las tarjetas en *Enterobacteriales* con KPC, a pesar la alta prevalencia mundial de estos patógenos multidrogosresistentes.

Este estudio encontró un 15,09 % de CE para la CMI de meropenem para el Vitek 2 Compact (BioMérieux, Francia) en comparación con el método de referencia, a diferencia de lo reportado por otros autores para este método comercial, como *Bulik* y otros,⁽¹¹⁾ quien en el año 2010 demostró un 30,4 % de CE para la CMI de meropenem en aislados de *K. pneumoniae* productora de carbapenemasa, y *Lat* y otros,⁽¹²⁾ quien obtuvo un 23 % de CE

para este mismo antibiótico. La CE obtenida en la presente investigación es mucho más baja que la reportada por ambos estudios, lo cual podría deberse a la tarjeta utilizada (AST-GN28). Sin embargo, la CMI₅₀ de los aislados incluidos en este estudio fue 4 µg/mL mientras que en los estudios anteriormente mencionados la CMI₅₀ fue 32 µg/mL, lo cual pudo haber influido en la CE ligeramente más alta reportada por ambos autores. Una diferencia notable entre este trabajo y esos estudios es que las CMIs reportadas con la tarjeta AST-GN28 fueron menores que el método de referencia utilizado (microdilución) lo cual fue atribuido por estos autores al menor inóculo bacteriano utilizado por el equipo automatizado.⁽¹⁹⁾ En esta investigación, el 83,01 % de las CMIs obtenidas con la tarjeta AST-N272 fueron mayores que el método de referencia utilizado (dilución en agar), lo cual pudiera deberse al algoritmo dinámico utilizado por el equipo para el cálculo de la CMI y al número de pocillos que contiene la tarjeta utilizada, la que incluye solo cuatro concentraciones del antimicrobiano (0,5; 2; 6 y 12 µg/mL) a diferencia de la tarjeta AST-GN28, que tiene siete concentraciones seriadas dobles (0,25; 1; 2; 4; 8 y 16 µg/mL; 1 hasta 16 µg/mL).

En *Enterobacteriales*, CMIs altas de meropenem han sido reportadas por otros autores con el equipo V2C¹⁹, inclusive en microorganismos que no poseen carbapenemasas.

Las tiras M.I.C.ETM (Oxoid, Reino Unido) tuvieron una excelente concordancia esencial (94,33 %) con el método de referencia, situación similar a la descrita por otros autores que reportaron un 100 % de CE para el imipenem.⁽²⁰⁾ Estudios comparativos utilizando esta marca comercial son escasos, sin embargo se ha reportado una concordancia superior al 90 % para otros antibióticos y otros grupos de patógenos.^(21,22) Se ha referido que las CMIs reportadas por esta metodología tienden a ser más altas, lo cual es atribuido a la presencia de microcolonias con mecanismos de resistencia adicionales, lo cual dificulta la lectura con el consiguiente aumento de la CMI. Esta lectura, también depende de la experticia del técnico que la realiza.⁽¹¹⁾ A pesar de la baja CE con el Vitek 2 Compact (BioMérieux, Francia), este sistema fue capaz de detectar la presencia de carbapenemasas en el 100 % de los aislados testados, como se describe en la literatura.⁽²³⁾

Una de las limitantes del estudio es que solo se incluyeron aislados de *K. pneumoniae* con un único tipo de carbapenemasa (KPC), por lo cual los datos no podrían extrapolarse a otros *Enterobacteriales* resistentes a carbapenemes por otro mecanismo de resistencia diferente al incluido, adicionalmente no se utilizaron aislados susceptibles o con sensibilidad intermedia y los experimentos no fueron ejecutados con el mismo inóculo bacteriano al

mismo tiempo. Sin embargo, los métodos comerciales fueron ejecutados por duplicado y por el mismo operador en el mismo día.

A pesar de las limitaciones, el presente trabajo contiene evidencia científica adicional sobre la falta de robustez del Sistema Vitek 2 Compact (BioMérieux, Francia) para la detección adecuada de la resistencia a carbapenémicos en bacterias gramnegativas, cuyo uso se extiende cada vez más en los laboratorios de microbiología clínica de Latinoamérica en medio de un incremento en la prevalencia de *Enterobacteriales* y bacilos no fermentadores productores de carbapenemasas.

Agradecimientos

A *Mónica Cartelle Gestal* por la lectura crítica del manuscrito y al personal de laboratorio del Hospital de Especialidades Guayaquil “Dr. Abel Gilbert Pontón”.

Referencias bibliográficas

1. Borer A, Odes LS, Riesenber K. Attributable Mortality Rate for Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2014;30(10):972-76. doi: 10.1086/605922
2. Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP. Outcomes of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Infection and the Impact of Antimicrobial and Adjunctive Therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008;29(12):1099-1106. doi: 10.1086/592412
3. Pierce VM, Simner PJ, Lonsway DR. Modified carbapenem inactivation method for phenotypic detection of carbapenemase production among enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* 2017;55(8):2321-33. doi: 10.1128/JCM.00193-17
4. Mo Y, Lorenzo M, Farghaly S, Kaur K, Housman ST. What's new in the treatment of multidrug-resistant gram-negative infections. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2019;93(20):171-181. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2018.08.007
5. Tzouveleki LS, Markogiannakis A, Piperaki E, Souli M, Daikos GL. Treating infections caused by carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(9):862-72. doi: 10.1111/1469-0691.12697

6. Petrosillo N, Giannella M, Lewis R, Viale P. Treatment of Carbapenem-resistant *Klebsiella Pneumoniae* The State of the Art. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2013;11(2):159-77. doi: 10.1586/eri.12.162
7. Lorente L, Lorenzo L, Martín MM. Meropenem by continuous versus intermittent infusion in ventilator-associated pneumonia due to gram-negative bacilli. *Ann Pharmacother.* 2006;40(2):219-23. doi:10.1345/aph.1G467
8. Tumbarello M, Viale P, Viscoli C. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: Importance of combination therapy. *Clin Infect Dis.* 2012;55(7):943-50. doi: 10.1093/cid/cis588
9. Tumbarello M, Treccarichi EM, Rosa FG De. Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: Differences in therapy and mortality in a multicentre study. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70(7):2133-43. doi: 10.1093/jac/dkv086
10. Daikos GL, Markogiannakis A. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: (When) might we still consider treating with carbapenems. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(8):1135-41. doi:10.1111/j.1469-0691.2011.03553
11. Bulik CC, Fauntleroy KA, Jenkins SG. Comparison of meropenem CIMs and susceptibilities for carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates by various testing methods. *J Clin Microbiol.* 2010;48(7):2402-06. doi: 10.1128/JCM.00267-10
12. Lat A, Clock SA, Wu F. Comparison of polymyxin B, tigecycline, cefepime, and meropenem CIMs for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* by broth Microdilution, vitek 2, and etest. *J Clin Microbiol.* 2011;49(5):1795-98. doi: 10.1128/JCM.02534-10
13. Bratu S, Landman D, Haag R. Rapid Spread of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City. *Arch Intern Med.* 2005;165(12):1430. doi: 10.1001/archinte.165.12.1430
14. Oteo J, Ortega A, Bartolomé R. Prospective multicenter study of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* from 83 hospitals in Spain reveals high in vitro susceptibility to colistin and meropenem. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(6):3406-12. doi: 10.1128/AAC.00086-15
15. Yu H, Qu F, Shan B. Detection of the mcr-1 colistin resistance gene in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* from different hospitals in China. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(8):5033-5. doi: 10.1128/AAC.00440-16
16. Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;70(1):119-23. doi: 10.1016/j.diagCIMrobio.2010.12.002

17. Clinical Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard - Ninth Edition. Vol 32. Wayne, PA, USA: CLSI; 2012.
18. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Sixth Informational Supplement M100-S26. Wayne, PA, USA: CLSI; 2016.
19. Hunt AC, Gibb AP. Investigation of *Enterobacteriaceae* isolates found to have a raised meropenem CIM by vitek 2. J Antimicrob Chemother. 2012;67(4):1045-6. doi: 10.1093/jac/dkr574
20. Mushtaq S, Warner M, Cloke J, Afzal-shah M, Livermore DM. Performance of the Oxoid M . I . C . Evaluator TM Strips compared with the Etest assay and BSAC agar dilution. J Antimicrob Chem. 2010;65:1702-11. doi: 10.1093/jac/dkq206
21. Campana EH, Carvalhaes CG, Nonato B, Machado AMDO, Gales AC. Comparison of M.I.C.E. and Etest with CLSI agar dilution for antimicrobial susceptibility testing against oxacillin-resistant *Staphylococcus* spp. PLoS One. 2014;9(4). doi: 10.1371/journal.pone.0094627
22. Rossatto FCP, Proença LA, Becker AP, Silveira AC de O, Caierão J, D'azevedo PA. Evaluation of Methods in Detecting Vancomycin CIM Among Mrsa Isolates and the Changes in Accuracy Related To Different CIM Values. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2014;56(6):469-72. doi: 10.1590/S0036-46652014000600002
23. Pasteran F, Lucero C, Soloaga R, Rapoport M, Corso A. Can we use imipenem and meropenem Vitek 2 CIMs for detection of suspected KPC and other-carbapenemase producers among species of *Enterobacteriaceae*. J Clin Microbiol. 2011;49(2):697-701. doi: [10.1128/JCM.01178-10](https://doi.org/10.1128/JCM.01178-10)

Conflicto de intereses

No existe conflicto de intereses en los participantes de la presente publicación.

Contribuciones de los autores

Claudia Soria-Segarra: Diseño del estudio; adquisición, análisis e interpretación de los resultados; así como en la redacción del manuscrito y aprobaron la versión final.

María de Lourdes Berrezueta: Diseño del estudio; adquisición, análisis e interpretación de los resultados; así como en la redacción del manuscrito y aprobaron la versión final.

Josselyn Calderón: Diseño del estudio; adquisición, análisis e interpretación de los resultados; así como en la redacción del manuscrito y aprobaron la versión final.

José E. Villacís: Diseño del estudio; adquisición, análisis e interpretación de los resultados; así como en la redacción del manuscrito y aprobaron la versión final.

Carmen Soria-Segarra: Diseño del estudio; adquisición, análisis e interpretación de los resultados; así como en la redacción del manuscrito y aprobaron la versión final.

Dianelys Quiñones: Diseño del estudio; adquisición, análisis e interpretación de los resultados; así como en la redacción del manuscrito y aprobaron la versión final.

Financiación

Fondos públicos del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública “Leopoldo Izquieta Pérez”.