



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS  
MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR  
ZUBIRÁN**

**ANÁLISIS DE LA RESISTENCIA A PENICILINA  
Y AMPICILINA EN CEPAS DE *ENTEROCOCCUS  
FAECALIS* Y SU RELACIÓN CON RESISTENCIA  
A OTROS BETA-LACTÁMICOS**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL:  
TÍTULO DE ESPECIALISTA**

**EN:  
INFECTOLOGÍA**

**PRESENTA:  
RICARDO ESPINOSA GONZÁLEZ**

**TUTOR  
DR. BERNARDO ALFONSO MARTÍNEZ GUERRA**



**CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO  
MARZO DE 2025**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**Título de la tesis: ANÁLISIS DE LA RESISTENCIA A PENICILINA Y AMPICILINA EN  
CEPAS DE ENTEROCOCCUS FAECALIS Y SU RELACIÓN CON RESISTENCIA A OTROS  
BETA-LACTÁMICOS**



**INCMNSZ**  
INSTITUTO NACIONAL  
DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN  
"DR. SALVADOR ZUBIRÁN"  
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'José Alberto Ávila Funes', is written over a horizontal line.

**Dr. José Alberto Ávila Funes**  
Director de Enseñanza  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN  
SALVADOR ZUBIRÁN

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Guillermo Miguel Ruiz-Palacios y Santos', is written over a horizontal line.

**Dr. Guillermo Miguel Ruiz-Palacios y Santos**  
Profesor Titular del curso de Infectología  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN  
SALVADOR ZUBIRÁN

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Bernardo Alfonso Martínez Guerra', is written over a horizontal line.

**Dr. Bernardo Alfonso Martínez Guerra**  
Tutor de Tesis  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN  
SALVADOR ZUBIRÁN

# **ÍNDICE**

RESUMEN .....	2
INTRODUCCIÓN .....	4
MARCO TEÓRICO.....	5
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	10
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	11
HIPÓTESIS.....	12
OBJETIVOS .....	13
MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	18
RESULTADOS.....	19
DISCUSIÓN .....	27
CONCLUSIONES .....	30
REFERENCIAS.....	31

## **RESUMEN**

### **Antecedentes**

Tradicionalmente se ha usado la susceptibilidad a ampicilina como predictor de la susceptibilidad a otros beta-lactámicos en cepas de *Enterococcus faecalis*. Sin embargo, desde 2006 se ha reportado la presencia cada vez mayor de cepas resistentes a penicilina y susceptibles a ampicilina (PRASEF). Estas cepas tienen tasas variables de resistencia a piperacilina e imipenem. Se ha reportado un mal rendimiento del método de difusión en disco (DD) para determinación de susceptibilidad antimicrobiana (AST) en *E. faecalis*. En este trabajo se pretendió determinar la prevalencia de cepas PRASEF en una muestra de aislados recuperados de muestras clínicas. Adicionalmente, se buscó caracterizar los perfiles de susceptibilidad a beta-lactámicos y determinar la tasa de acuerdo entre los métodos de microdilución en caldo (MDC) y difusión en disco para ampicilina, penicilina, piperacilina e imipenem.

### **Metodología**

Se recuperaron cepas de *E. faecalis* del cepario del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Estos aislados se recuperaron originalmente entre 2005 y 2023 de muestras clínicas (orina y sangre) y fueron almacenadas en ultracongelación en este centro de atención de tercer nivel localizado en la Ciudad de México. Los métodos de AST se realizaron de acuerdo con las recomendaciones de EUCAST y CLSI; la susceptibilidad se consideró con los puntos de corte establecidos por estas organizaciones. Se calculó el acuerdo categórico y precisión diagnóstica (sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo) de la DD tomando con estándar de oro la MDC.

### **Resultados**

Se recuperaron en total 178 aislados de *E. faecalis*. No se encontró ningún aislado resistente a ampicilina. Se documentó el fenotipo PRASEF en 8/178 (4.5%). Por medio de MDC se encontró resistencia a piperacilina e imipenem en 14/178 (7.9%) y 1/178 (0.6%), respectivamente. No se detectó resistencia a dichos antibióticos por DD. El acuerdo categórico entre la MDC y DD para la susceptibilidad d piperacilina e imipenem fue de 92.1% y 99.4%, respectivamente. De los aislados PRASEF 8/8 (100%) fueron resistentes a piperacilina y 1/8 (12.5%) a imipenem.

## **Conclusiones**

Se encontró una prevalencia baja de aislados PRASEF. Aunque la tasa de acuerdo categórico fue alta, la DD no pudo detectar aislados resistentes a piperacilina e imipenem. Nuestros hallazgos sugieren que no debería utilizarse la susceptibilidad a ampicilina de forma aislada para predecir la susceptibilidad a otros beta-lactámicos, en particular en aislados PRASEF.

## **INTRODUCCIÓN**

Las infecciones por *Enterococcus sp* representan un problema de grandes dimensiones en la Infectología, tanto por su frecuencia como por la dificultad de su tratamiento.<sup>1</sup> Las bacterias de este género se encuentran, de forma global, entre los principales patógenos de infecciones asociadas a los cuidados de la salud, con un predominio de *E. faecalis* dentro del género. Hay variaciones epidemiológicas en diferentes partes del mundo, pero en general esta especie es la más frecuentemente aislada.<sup>2</sup> En América Latina es especialmente marcado este predominio.<sup>3</sup>

Además del volumen total de infecciones, representa un reto al tratamiento por su resistencia intrínseca a múltiples beta-lactámicos, especialmente las cefalosporinas de tercera generación. Dentro de las pruebas de susceptibilidad realizadas de forma rutinaria se suele probar la ampicilina y, en ocasiones la penicilina. Los demás beta-lactámicos con actividad conocida contra *E. faecalis*, como el imipenem y la piperacilina no son probados de forma frecuente, y su actividad se infiere a partir de la de la ampicilina. Esto es especialmente relevante en el contexto de infecciones polimicrobianas, donde suele ser necesario usar estos dos antibióticos.<sup>1</sup>

Si bien el uso de la ampicilina como marcador de susceptibilidad a beta-lactámicos en general se estableció previamente, en las últimas dos décadas se ha reportado en diversas partes del mundo cepas con susceptibilidad a ampicilina, pero resistencia a penicilina. En las series publicadas se ha sugerido una mayor resistencia a piperacilina e imipenem en estas cepas.<sup>1</sup>

En México no se han realizado estudios para determinar la presencia y prevalencia de cepas con este patrón de resistencia, ni estudios de susceptibilidad a piperacilina e imipenem, en general, por lo que existe una brecha de conocimiento con un alto impacto en el manejo de estas infecciones.

## **MARCO TEÓRICO**

### **Prevalencia y epidemiología de infecciones por *Enterococcus sp***

Las infecciones por *Enterococcus sp* representan un problema cada vez más relevante, tanto por la dificultad de su tratamiento como por su relevancia como patógenos nosocomiales.<sup>1</sup> Su presencia habitual como comensales en el tracto digestivo humano, junto con su resistencia intrínseca a una gran cantidad de antibióticos de uso común, los convierte en causantes frecuentes de infecciones asociadas a cuidados de la salud. Entre éstas se asocia más comúnmente a infecciones del tracto urinario, bacteriemia y endocarditis, infecciones de tejidos blandos, infecciones intraabdominales y de la vía biliar e infecciones de dispositivos médicos invasivos.<sup>4</sup>

Actualmente se reporta como uno de los patógenos más frecuentemente aislados en infecciones nosocomiales, con una incidencia en hospitales de la Unión Europea de 0.14-0.92/1000 pacientes hospitalizados por día, representando hasta 17.5% de los aislamientos totales de infecciones asociadas a cuidados de la salud.<sup>2</sup>

De entre las especies de *Enterococcus* reportadas frecuentemente, inicialmente se describió un predominio claro de *E. faecalis*, asociado con la generalización del uso de cefalosporinas de tercera generación. En Estados Unidos, sin embargo, se ha reportado un porcentaje cada vez mayor de aislamientos de *E. faecium*, de tal forma que actualmente éste se considera una causa de infecciones asociadas a los cuidados de la salud casi tan frecuente como *E. faecalis*.<sup>5</sup>

En Latinoamérica, por otra parte, se han reportado proporciones menores de *Enterococcus sp* en aislamientos de infecciones asociadas a los cuidados de salud, si bien se encuentran entre los 10 patógenos más frecuentemente aislados. Así, en un estudio de prevalencia realizado en Brasil, Colombia, México y Venezuela, con una prevalencia promedio de infecciones asociadas a cuidados de la salud de 11.5%, *E. faecalis* representó entre el 1.2 y 5.4% de todos los aislamientos, probablemente subrepresentado por la gran proporción de casos de neumonía incluidos en el estudio.<sup>3</sup>

En otro estudio de prevalencia, realizado en Colombia, Ecuador, Venezuela y Perú, la mayoría de los aislamientos de *Enterococcus sp* seguía correspondiendo a *E. faecalis* (alrededor de 78%), con un porcentaje aún bajo de casos debidos a *E. faecium*.<sup>6</sup>

## **Susceptibilidad normal de *Enterococcus***

Además de la prevalencia alta y creciente, estos microorganismos representan un reto para el tratamiento dado su resistencia intrínseca a antibióticos de amplio espectro, como las cefalosporinas de tercera generación. Dentro de los beta-lactámicos, la penicilina, aminopenicilinas, piperacilina e imipenem tienen actividad bactericida. A pesar del aumento de resistencia a aminopenicilinas en *E. faecium*, la mayoría de las cepas de *E. faecalis* continúa siendo susceptible.<sup>1</sup>

En el estudio SENTRY se encontró que, en el periodo de 2013 a 2016, el 78.1% de los aislamientos de *E. faecalis* tenía susceptibilidad a ampicilina, en comparación con el 95% en el periodo de 1997-2000.<sup>7</sup>

Entre los beta-lactámicos utilizados para el tratamiento de infecciones por *E. faecalis*, suele determinarse *in vitro* la susceptibilidad a ampicilina y, ocasionalmente a penicilina. Previamente se ha demostrado la excelente correlación entre la susceptibilidad a ampicilina e imipenem (si bien no hay puntos de corte específicos para determinar susceptibilidad a imipenem del microorganismo), de tal forma que no se supone necesaria la búsqueda dirigida. Algunos estudios realizados inicialmente mostraron una concordancia de la susceptibilidad a ambos antibióticos de 95-99%, dependiendo del método utilizado. En estos estudios se encontró una concordancia algo menor con la susceptibilidad a penicilina, produciendo una ligera sobreestimación de la resistencia a imipenem.<sup>8-9</sup> Además de la determinación de susceptibilidad a ampicilina y penicilina, se ha convertido en práctica estándar, sugerido por el *Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI)*, la detección de *Enterococcus sp* productores de beta-lactamasa mediante el uso de discos de nitrocefina. Esto se debe a reportes, publicados en los años 80s, de cepas de *Enterococcus* productores de esta enzima, capaz de hidrolizar penicilina, amino y ureidopenicilinas, que presentaban efecto inóculo, escapando así a la detección fenotípica usada convencionalmente para la determinación de susceptibilidad a penicilina o ampicilina. Si bien se reportaron varios casos y algunos brotes intrahospitalarios inicialmente, actualmente parece ser muy poco frecuente la detección de estos microorganismos.<sup>10</sup> Tanto en un estudio realizado en Brasil en 2012, con 317

cepas de *E. faecalis*<sup>11</sup>, como en otro realizado en Grecia en 2005 con 287 cepas, no se encontró ninguna cepa productora de beta-lactamasa.<sup>12</sup>

### **Determinación de resistencias antimicrobianas en *Enterococcus sp***

La detección de resistencia antimicrobiana en *Enterococcus sp* se suele llevar a cabo por métodos rápidos, como difusión en disco o gradiente de difusión, con buenos resultados para penicilina y ampicilina reportados en la literatura, si bien se han reportado algunos casos de sobreestimación de resistencia por estos métodos.<sup>1</sup>

Cada vez es más frecuente el uso de métodos automatizados para determinar la resistencia a antibióticos de primera línea, con buenos resultados para la ampicilina. Sin embargo, se han reportado previamente resultados discordantes para la determinación de penicilina. Específicamente para la determinación de susceptibilidad por medio del sistema automatizado Vitek-2®, un estudio realizado en Singapur mostró una concordancia de 100% para ampicilina, pero una tasa de 93.9% de errores mayores para penicilina (46 falsos positivos encontrados), en comparación con la microdilución en caldo (el estándar de referencia). Especialmente destacable de este estudio resultó el hecho de que la concordancia entre los métodos de difusión en disco y microdilución en caldo para penicilina fue de apenas 65.3% en el total de las cepas, a diferencia de lo reportado previamente. En cambio, para el método de E-test, la concordancia fue del 100%.

13

La susceptibilidad de *E. faecalis* a piperacilina-tazobactam e imipenem no suele determinarse de forma rutinaria; adicionalmente, no hay puntos de corte clínicos establecidos para determinar la susceptibilidad a estos agentes. Dado esto, se ha utilizado tradicionalmente la susceptibilidad a ampicilina como marcador de susceptibilidad a otros beta-lactámicos, de acuerdo con lo establecido por CLSI y el *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST).<sup>1</sup>

### ***E. faecalis* resistente a penicilina y susceptible a ampicilina (PRASEF)**

Desde 2006 se ha reportado consistentemente la presencia de cepas de *E. faecalis* susceptible a ampicilina, pero resistente a penicilina (PRASEF, por sus siglas en inglés), con prevalencias

variables en diferentes regiones del mundo; (desde 31% de los aislamientos de *E. faecalis* en Grecia<sup>12</sup>, hasta 5% en Singapur<sup>13</sup>). La prevalencia de estas cepas en México no está reportada. Sin embargo, en un reporte de 3 hospitales de tercer nivel, la prevalencia de resistencia a penicilina fue del 11% de los aislamientos de *E. faecalis*, con una prevalencia de resistencia a ampicilina de 8%.<sup>14</sup> Este patrón de resistencia se asocia a mutaciones en el gen *pbp4*, con la producción de una proteína con afinidad muy reducida a beta-lactámicos.<sup>15</sup> Interesantemente, estas cepas parecen estar confinadas a ambientes hospitalarios, siendo las cepas ambientales uniformemente susceptibles a penicilina.<sup>16</sup>

Es especialmente preocupante que en las cepas con este fenotipo parece perderse en buena medida de la correlación de susceptibilidad entre ampicilina e imipenem o piperacilina, manteniéndose sólo para amoxicilina. En un estudio realizado en Brasil con 34 cepas PRASEF, la concordancia entre susceptibilidad a ampicilina e imipenem osciló entre 38% (difusión en disco) y 74% (microdilución en caldo); los resultados fueron aún peores para piperacilina.<sup>11</sup> Esto se ha confirmado en estudios posteriores, donde se ha determinado la prevalencia de resistencia a imipenem y piperacilina en 27 y 98% de las cepas PRASEF, respectivamente.<sup>17</sup> De forma importante, en estos estudios se ha reportado adicionalmente un rendimiento subóptimo para el método de difusión en disco en la determinación de resistencia a imipenem y piperacilina, volviéndolo un método poco confiable en las cepas PRASEF. Los resultados con difusión en gradiente han sido, si bien superiores a la difusión en disco, igualmente problemáticos para piperacilina e imipenem.<sup>13, 17</sup> Los métodos automatizados presentan también problemas para identificar a estas cepas. Esto queda evidenciado en el ya mencionado estudio que se llevó a cabo en Singapur, donde la concordancia categórica usando el sistema VITEK-2 en comparación con la microdilución en disco fue baja, muy diferente a lo reportado en estudios anteriores. Esta discordancia podría ser en buena medida atribuible a las cepas con fenotipo PRASEF.<sup>13</sup> Todo esto sugeriría que los métodos automatizados probablemente sean inadecuados para la detección de cepas PRASEF. Además de representar un problema para la detección de estas cepas en el laboratorio, las cepas PRASEF parecen presentar dificultades adicionales en el tratamiento de las infecciones. En un estudio realizado en Corea en pacientes con bacteriemia por *E. faecalis*, con una prevalencia elevada de cepas PRASEF (23%), se encontró a la resistencia a penicilina como un factor asociado de forma independiente a mortalidad a 30 días, con una alta tasa de tratamientos

empíricos inadecuados. Esta diferencia, de forma esperable, parece haber estado limitada al grupo de pacientes tratados con beta-lactámicos (incluyendo ampicilina).<sup>15</sup>

Es frecuente el aislamiento de *E. faecalis* en infecciones polimicrobianas, siendo un escenario común las infecciones intraabdominales o de vías urinarias. En estos escenarios suelen aislarse en conjunto con *Enterobacterales*, requiriendo de regímenes antibióticos de amplio espectro con actividad contra estas bacterias. En estos casos se suele recurrir al uso de piperacilina-tazobactam e imipenem, infiriéndose su susceptibilidad a partir de la susceptibilidad a ampicilina, y sin su determinación directa. Esto, presumiblemente, llevará a elevadas tasas de fracaso terapéutico en sitios con prevalencia elevada de aislados PRASEF, donde no podría suponerse la susceptibilidad a otros beta-lactámicos.<sup>1, 15</sup>

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Como se mencionó previamente, la susceptibilidad de aislados de *E. faecalis* a todos los beta-lactámicos utilizados no se determina de forma habitual, dado el uso de la susceptibilidad a ampicilina como marcador global de susceptibilidad a beta-lactámicos, considerándose adecuada su determinación por métodos rápidos (difusión en disco) y automatizados (VITEK-2). Sin embargo, deben considerarse los reportes de las últimas dos décadas de cepas PRASEF, entre las cuales las tasas de resistencia a piperacilina e imipenem son mucho mayores y no predecibles por la susceptibilidad a ampicilina. Asimismo, se ha encontrado discrepancias entre los métodos rápidos y automatizados y la microdilución en caldo para la determinación de susceptibilidad a estos antimicrobianos. En Latinoamérica *E. faecalis* es prevalente entre las causas de infecciones asociadas a cuidados de la salud. Asimismo, se ha reportado la presencia de cepas PRASEF en Brasil. En México no se ha reportado en la literatura la presencia o prevalencia de estas cepas, por lo que es probable que ocurra de forma frecuente el uso inadecuado de piperacilina e imipenem para el tratamiento de infecciones por *E. faecalis* susceptible a ampicilina.

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

1. En cepas de *E. faecalis* recuperadas del cepario del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, ¿cuál es la frecuencia del fenotipo PRASEF?

## **HIPÓTESIS**

La frecuencia de cepas de *E. faecalis* recuperadas del cepario del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, con fenotipo PRASEF será del 10 al 30%.<sup>11,12,13,15</sup>

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo principal**

Describir la frecuencia de cepas de *E. faecalis* con fenotipo PRASEF recuperadas del cepario institucional.

### **Objetivos secundarios**

- Describir la frecuencia de cepas PRASEF con resistencia a piperacilina +/- tazobactam
- Describir la frecuencia de cepas PRASEF con resistencia a imipenem
- Describir la concordancia entre la determinación de susceptibilidad por distintos métodos (difusión en disco y microdilución) a penicilina, ampicilina, piperacilina +/- tazobactam e imipenem
- Describir el rendimiento diagnóstico de la determinación de susceptibilidad a penicilina, ampicilina, piperacilina +/- tazobactam e imipenem por difusión en disco (en comparación con la microdilución en caldo)

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Diseño del estudio**

Se realizó un estudio observacional, transversal y unicéntrico.

### **Población en estudio**

Se analizaron aislamientos de *Enterococcus faecalis*, recuperados entre 2015 y 2024 de muestras de sangre y orina de pacientes atendidos en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ). Los aislamientos se encontraban almacenados en ultracongelación a -70°C en caldo de Mueller-Hinton con glicerol en el cepario del Laboratorio de Microbiología Clínica del Instituto.

### **Criterios de inclusión**

- Aislamientos de *Enterococcus faecalis*, recuperados entre 2015 y 2024, de muestras de sangre y orina de pacientes del INCMNSZ.

### **Criterios de exclusión**

No existieron criterios de exclusión o eliminación.

### **Identificación de las cepas**

La recuperación, identificación y determinación de susceptibilidad antimicrobiana de las muestras se realizó con los métodos validados y utilizados rutinariamente en el laboratorio de Microbiología del INCMNSZ.

Los aislamientos se extrajeron de ultracongelación y se sembraron en medio agar sangre de carnero (MCD LAB®; Oaxaca, México) y se incubaron a 35±2°C por 18-24 h, para posteriormente realizar una segunda resiembra e incubación en las mismas condiciones. La

identificación se llevó a cabo mediante espectrometría de masas por MALDI-TOF *Biotyper SIRIUS* (Bruker Daltonics®, Billerica, E.U.A.). Una vez confirmada el aislado como *E. faecalis*, se procedió a realizar la determinación de susceptibilidad antimicrobiana por medio de microdilución en caldo (MDC) y difusión en disco (DD).

### **Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana por microdilución en caldo (MDC)**

#### ***Preparación de placas con los antibióticos a probar***

La preparación se llevó a cabo de acuerdo con lo descrito por el CLSI M07.<sup>18</sup> Se preparó caldo Mueller Hinton (MH) ajustado con cationes, del cual se colocaron 200 µL en cada pozo de la microplaca de 96 pozos en fondo U. Por otro lado, se prepararon soluciones stock de ampicilina (Sigma-Aldrich®), penicilina G (Sigma-Aldrich®), piperacilina (Sigma-Aldrich®), imipenem (Sigma-Aldrich®) a una concentración de 5120 µg/mL y tazobactam (Sigma-Aldrich®) a una concentración de 80 µg/mL. Se realizaron diluciones seriadas hasta llegar a la concentración establecida por el CLSI para ser utilizada para la preparación de la placa. Las concentraciones probadas fueron de 32 a 0.062 µg/mL y en el caso de piperacilina/tazobactam, las concentraciones probadas fueron de 32/4 µg/mL a 0.062/4 µg/mL.

#### ***Preparación del inóculo, siembra, lectura e interpretación de resultados***

De cada aislamiento, se preparó una suspensión al 0.5 de McFarland en solución salina estéril, que corresponde aproximadamente a  $1-2 \times 10^8$  UFC/mL. Posteriormente, se realizó una dilución 1:20, de la cual se inocularon 10 µL en cada pozo de la microplaca. En cada experimento se incluyó cepas de *E. faecalis* (ATCC 29212) y *K. pneumoniae* (ATCC 700603) como control de calidad; además, se incluyó un control de esterilidad del medio y un control de crecimiento de la cepa problema. Las placas fueron incubadas por 16-20 h a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . La lectura e interpretación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) se realizó de acuerdo con lo establecido en la CLSI\_M100, considerando los siguientes puntos de corte:

- Penicilina y ampicilina: susceptible,  $\leq 8$  µg/mL y resistente,  $\geq 16$  µg/mL

- En el caso de imipenem, dado que no existen puntos de corte establecidos por CLSI ni EUCAST, se tomaron en cuenta los puntos de corte, establecidos por la *Food and Drug Administration* (FDA) de Estados Unidos: susceptible  $\leq 4 \mu\text{g/mL}$ , intermedio  $8 \mu\text{g/mL}$  y resistente  $> 8 \mu\text{g/mL}$ .<sup>8</sup>
- Para piperacilina y piperacilina-tazobactam, se utilizaron los puntos de corte epidemiológicos sugeridos por la ESCMID: resistente  $> 16 \mu\text{g/mL}$ .<sup>19</sup>

Para la determinación de susceptibilidad por DD, se realizó la siembra en agar Mueller-Hinton a partir de la suspensión al 0.5 de McFarland que se utilizó para la MDC, para posteriormente colocar cada uno de los sensidiscos a probar:

- Penicilina 10  $\mu\text{g}$  (BD BBL®Sensi-Disc™)
- Ampicilina 10  $\mu\text{g}$  (BD BBL®Sensi-Disc™),
- Piperacilina 100  $\mu\text{g}$  (BD Sensi-Disc®)
- Imipenem 10  $\mu\text{g}$  (BD BBL®Sensi-Disc®)
- Piperacilina-tazobactam 110  $\mu\text{g}$  (BD Sensi-Disc®).

Como cepas control se incluyó a *S. aureus* (ATCC 25923) y *E. coli* (ATCC 25922 y 35218) en cada experimento. Las placas fueron incubadas a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 16-18 h. La lectura e interpretación de los halos de inhibición se realizó de acuerdo con lo establecidos por CLSI\_M02<sup>20</sup>, tomando en cuenta los siguientes halos de inhibición:

- Penicilina: susceptible  $\geq 15 \text{ mm}$  y resistente  $\leq 14 \text{ mm}$
- Ampicilina: susceptible  $\geq 17 \text{ mm}$  y resistente  $\leq 16 \text{ mm}$
- En el caso de imipenem, dado que no existen puntos de corte establecidos por CLSI ni EUCAST, se tomaron en cuenta los puntos de corte establecidos por la *Food and Drug Administration* (FDA) de Estados Unidos, los cuales no consideran género o especie: susceptible,  $\geq 16 \text{ mm}$ ; intermedio, 14-15 mm y resistente  $\leq 13 \text{ mm}$ .<sup>9</sup>
- Para **piperacilina** y **piperacilina-tazobactam**, se utilizaron los puntos de corte epidemiológicos sugeridos previamente por la ESCMID (si bien actualmente no se encuentran vigentes para esta organización): resistente  $< 17 \text{ mm}$ .<sup>19</sup>

La determinación de susceptibilidad a piperacilina e imipenem tanto por MDC como por DD, si bien no están estandarizadas para su uso en cepas de *E. faecalis*, sí ha sido utilizada en otros estudios de determinación de susceptibilidad antimicrobiana de este microorganismo, particularmente en aquellos estudios que han caracterizado cepas con fenotipo PRASEF.<sup>11, 17</sup> En *E. faecalis*, se recomienda la detección de  $\beta$ -lactamasas mediante el uso de un disco de nitrocefina en caso de sospecharse su presencia. Sin embargo, en nuestro estudio, no realizamos dicha determinación debido a que, por un lado, el disco no se encontraba disponible en nuestro país, además de que, en los estudios realizados hasta el momento, no se han reportado cepas productoras de estas enzimas<sup>13, 17</sup>. Todos los estudios de susceptibilidad (tanto difusión en disco como microdilución en caldo) se llevaron a cabo por duplicado. La lectura de los halos de inhibición y las CMI se llevó a cabo por dos microbiólogos expertos en el área.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

### **Cálculo de la muestra**

Al tratarse de un estudio piloto de prevalencia, no se consideró forzoso un cálculo de tamaño de muestra. Sin embargo, de forma exploratoria se calculó un tamaño de muestra apropiado de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z^2 P(1-P)}{d^2}$$

Asumiendo una prevalencia esperada de 10%, un error alfa de 0.05 y una precisión del 95% se estimó un tamaño de muestra necesario en 139.

De acuerdo con las recomendaciones de CLSI, se considera adecuada una muestra de 100 aislados para la comparación de un método de determinación de susceptibilidad antimicrobiana.

Se reportó las variables categóricas en frecuencias absolutas y relativas. No se realizó comparación entre grupos.

Se calcularon sensibilidad, especificidad y valores predictivos, así como intervalos de confianza (IC) al 95%. Se consideró a MDC como referencia (aquí una cita que soporte esto). Al respecto de la concordancia de susceptibilidad por difusión en disco y microdilución en caldo:

Se determinó:

- Porcentaje de acuerdo categórico
- Porcentaje de errores:
  - Menores (resultado intermedio por DD y resistente/susceptible por MDC)
  - Mayores (resultado resistente por DD y susceptible por MDC)
  - Graves (resultado susceptible por DD y resistente por MDC)

De acuerdo con lo sugerido por CLSI, se consideró aceptable un porcentaje de acuerdo categórico  $\geq 10\%$ , porcentaje de errores menores  $\leq 10\%$  y de errores mayores/graves  $< 3\%$ .<sup>21</sup>

## **RESULTADOS**

### **Resistencia a diferentes antibióticos**

Utilizando MDC, no se documentó resistencia a ampicilina en ningún aislado. Sin embargo, se encontró resistencia a penicilina (fenotipo PRAEF) en 8/178 (4.5%) aislados, y a piperacilina (+/- tazobactam) en 14/178 (7.9%). (**Tabla 1**)

**Tabla 1.** Patrón de susceptibilidad

Antibiótico	Aislados no susceptibles/Aislados probados (%)
Penicilina	8/178 (4.5)
Ampicilina	0/178 (0)
Piperacilina	14/178 (7.9)
Piperacilina-tazobactam	14/178 (7.9)
Imipenem	1/178 (0.6)

### **Caracterización de las cepas PRAEF**

Se documentaron 8/178 (4.5%) aislados con fenotipo PRAEF. Entre estos aislados, se encontró ausencia de susceptibilidad a piperacilina (+/- tazobactam) en 8/8 (100%) y a imipenem (cuyo resultado fue intermedio) en 1/8 (12.5%). (**Tabla 2**)

**Tabla 2.** Susceptibilidad de aislados con fenotipo PRAEF y no PRAEF por MDC

	No susceptibles (PRAEF) (%)	No susceptibles (no PRAEF) (%)
Piperacilina	8/8 (100)	6/170 (3.5)
Piperacilina-tazobactam	8/8 (100)	6/170 (3.5)
Imipenem	1/8 (12.5)	0/170 (0)

### **Concordancia entre microdilución en caldo y difusión en disco y rendimiento diagnóstico**

El acuerdo categórico de la susceptibilidad a penicilina fue de 96.6% (172/178). La DD tuvo 1 error grave (12.5%) y 5 errores mayores (2.9%); con esto la prueba mostró sensibilidad de 87.5% (IC95% 47.4-99.7), especificidad de 97.1% (IC95% 93.3-99%), valor predictivo positivo (VPP) de 58.3% (IC95% 36.2-77.5), VPN de 99.4% (IC95% 96.4-99.9) y precisión diagnóstica de 96.6% (IC95% 92.8-98.8).

Se encontró acuerdo categórico del 100% para la susceptibilidad a ampicilina. Sin embargo, para el resto de los antibióticos probados, la concordancia fue menor, especialmente para piperacilina (+/- tazobactam), donde se observó acuerdo categórico de 92.1% (164/178). La ausencia de concordancia ocurrió a expensas de 14 errores graves (100%), otorgando sensibilidad

de la prueba de 0% (IC95% 0-23.2) y especificidad de 100% (IC95% 97.8-100). En el caso de imipenem, el método de difusión en disco no identificó al único aislado no susceptible probado (error menor de 100%), con sensibilidad de 0% (IC95% 0-23.2) y especificidad de 100% (IC95% 97.8-100). (**Tablas 3 y 4**)

**Tabla 3.** Acuerdo microbiológico

Antibiótico	Método	Aislados n=178 (%)		Errores n=21 (%)			Acuerdo categórico (%)
		No susceptibles	Susceptibles	Grave	Mayor	Menor	
Penicilina	MDC	8 (4.5)	170 (95.5)				
	DD	12 (6.7)	166 (93.3)	1 (12.5)	5 (2.9%)		96.6
Ampicilina	MDC	0	178 (100)				
	DD	0	178 (100)	0	0		100
Piperacilina	MDC	14 (7.9)	164 (92.1)				
	DD	0	178 (100)	14 (100)	0		92.1
Imipenem	MDC	1 (0.6)	177 (99.4)				
	DD	0	178 (100)	0	0	1 (100)	99.4

La concordancia entre MDC y DD fue menor entre los aislados con fenotipo PRASEF en comparación con el total de la muestra. La difusión en disco no detectó aislados no susceptibles, con concordancia nula (0%), a piperacilina (+/- tazobactam) e imipenem. (**Tabla 5**)

**Tabla 4.** Rendimiento diagnóstico y concordancia

Antibiótico	Susceptibles por MDC (%)	No susceptibles por MDC (%)	Susceptibles por DD (%)	No susceptibles por DD (%)	Concordancia (MDC/DD)	Sen (IC95%)	Esp (IC95%)	VPP (IC95%)	VPN (IC95%)	Precisión (IC95%)
Penicilina	170 (95.5)	8 (4.5)	166 (93.3)	12 (6.7)	172 (96.6)	87.5 (47.4-99.7)	97.1 (93.3-99.0)	58.3 (36.2-77.5)	99.4 (96.4-99.9)	96.6 (92.8-98.8)
Ampicilina	178 (100)	0	178 (100)	0	178 (100)		100 (98.0-100)		100 (98.0-100)	
Piperacilina	164 (92.1)	14 (7.9)	178 (100)	0	164 (92.1)	0 (0-23.2)	100 (97.8-100)		92.1 (92.1-92.1)	92.1 (87.2-95.6)
Piperacilina-tazobactam	164 (92.1)	14 (7.9)	178 (100)	0	164 (92.1)	0 (0-23.2)	100 (97.8-100)		92.1 (92.1-92.1)	92.1 (87.2-95.6)
Imipenem	177 (99.4)	1 (0.6)	178 (100)	0 (0)	177 (99.4)	0 (0-97.5)	100 (97.9-100)		99.4 (99.4-99.4)	99.4 (96.9-100)

DD: Difusión en disco, ESP: especificidad, MDC: microdilución en caldo, SEN: Sensibilidad, VPN: valor predictivo negativo, VPP: valor predictivo positivo.

**Tabla 5.** Susceptibilidad de aislados con fenotipo PRASEF por MDC y DD

	No susceptibles por DD (%)	No susceptibles por MDC (%)
Piperacilina	0/8 (0)	8/8 (100)
Piperacilina-tazobactam	0/8 (0)	8/8 (100)
Imipenem	0/8 (0)	1/8 (12.5)

### Concordancia de susceptibilidad entre antibióticos

Por medio de MDC se encontró concordancia de susceptibilidad entre ampicilina y penicilina en 170/178 (95.5%). Se documentó concordancia de susceptibilidad entre ampicilina y piperacilina (+/- tazobactam) y ampicilina e imipenem en 164/178 (92.1%) y 177/178 (99.4%), respectivamente. Se observó concordancia de susceptibilidad entre penicilina y piperacilina (+/- tazobactam) y penicilina e imipenem en 164/170 (96.5%) y 170/170 (100%), respectivamente. (**Tabla 6**)

**Tabla 6.** Relación de susceptibilidad entre diferentes antibióticos por microdilución en caldo

	Penicilina n=170 (%)	Ampicilina n = 178 (%)	Piperacilina n = 164 (%)	Piperacilina- tazobactam n = 164 (%)	Imipenem n = 177 (%)
Penicilina	/	170 (95.5%)	164 (100%)	164 (100%)	170 (96.1%)
Ampicilina	170 (100%)	/	164 (100%)	164 (100%)	177 (100%)
Piperacilina	164 (96.5%)	164 (92.1%)	/	164 (100%)	164 (92.7%)
Piperacilina- tazobactam	164 (96.5%)	164 (92.1%)	164 (100%)	/	164 (92.7%)
Imipenem	170 (100%)	177 (99.4%)	164 (100%)	164 (100%)	/

Por medio de DD se encontró concordancia de susceptibilidad entre ampicilina y penicilina en 166/178 (93.3%). En 178/178 (100%) se documentó concordancia de susceptibilidad entre ampicilina y piperacilina (+/- tazobactam) y ampicilina e imipenem. Se observó concordancia de susceptibilidad entre penicilina y piperacilina (+/- tazobactam) y penicilina e imipenem en 166/166 (100%), para ambos casos. (**Tabla 7**)

**Tabla 7.** Relación de susceptibilidad entre diferentes antibióticos por difusión en disco

	Penicilina (n = 166)	Ampicilina (n = 178)	Piperacilina (n = 178)	Piperacilina- tazobactam (n = 178)	Imipenem (n = 178)
Penicilina	/	166 (93.3%)	166 (93.3%)	166 (93.3%)	166 (93.3%)
Ampicilina	166 (100%)	/	178 (100%)	178 (100%)	178 (100%)
Piperacilina	166 (100%)	178 (100%)	/	178 (100%)	178 (100%)
Piperacilina- tazobactam	166 (100%)	178 (100%)	178 (100%)	/	178 (100%)
Imipenem	166 (100%)	178 (100%)	178 (100%)	178 (100%)	/

Como se ha mencionado previamente, no se encontraron aislados con resistencia a ampicilina; sin embargo, en los aislados con CIM mayores para penicilina se encontró CIM más altas para ampicilina. Esto se encontró tanto en aquellos aislados con CIM categorizados como resistentes ( $\geq 16$  mcg/mL) como aquéllos con CIM en el límite superior del rango de susceptibilidad (8 mcg/mL). (**Gráfica 1**)

Esta misma distribución se observó para la susceptibilidad a piperacilina (+/- tazobactam). De los 14 aislados resistentes a este antibiótico (CIM > 16 mcg/mL), 8 tenían CIMs de penicilina en rango de resistencia ( $\geq 16$  mcg/mL) y los otros 6 en el límite superior del rango de susceptibilidad (8 mcg/mL). (**Gráfica 2**).

En el caso de imipenem, si bien sólo se encontró un aislado no susceptible (intermedio), con CIM de 8 mcg/mL, se encontraron 14 aislados con CIM en el límite superior del rango de susceptibilidad (4 mcg/mL), de los cuales 7 tenían CIM de penicilina de 8 mcg/mL y 6 de 16 mcg/mL. (**Gráfica 3**)

**Gráfica 1.** Relación de CIMs de penicilina y ampicilina

	MIC AMP 0.5 mcg/mL	MIC AMP 1 mcg/mL	MIC AMP 2 mcg/mL	MIC AMP 4 mcg/mL	MIC AMP 8 mcg/mL
MIC PEN 1 mcg/mL	4	3	0	0	0
MIC PEN 2 mcg/mL	3	82	27	0	0
MIC PEN 4 mcg/mL	0	14	26	1	0
MIC PEN 8 mcg/mL	0	0	5	5	0
MIC PEN 16 mcg/mL	0	0	2	5	1

**Gráfica 2.** Relación de CIMs de penicilina y piperacilina

		MIC PIP 1 mcg/mL	MIC PIP 2 mcg/mL	MIC PIP 4 mcg/mL	MIC PIP 8 mcg/mL	MIC PIP 16 mcg/mL	MIC PIP 32 mcg/mL
MIC PEN 1 mcg/mL	1	6	0	0	0	0	0
MIC PEN 2 mcg/mL	0	6	99	7	0	0	0
MIC PEN 4 mcg/mL	0	0	24	14	3	0	0
MIC PEN 8 mcg/mL	0	0	0	0	4	6	0
MIC PEN 16 mcg/mL	0	0	0	0	0	8	0

**Gráfica 3.** Relación de CIMs de penicilina e imipenem

		MIC IMP 0.5 mcg/mL	MIC IMP 1 mcg/mL	MIC IMP 2 mcg/mL	MIC IMP 4 mcg/mL	MIC IMP 8 mcg/mL
MIC PEN 1 mcg/mL	3	4	0	0	0	0
MIC PEN 2 mcg/mL	3	87	22	0	0	0
MIC PEN 4 mcg/mL	0	7	33	1	0	0
MIC PEN 8 mcg/mL	0	0	3	7	0	0
MIC PEN 16 mcg/mL	0	0	1	6	1	1

## **DISCUSIÓN**

La prevalencia encontrada de cepas PRASEF (4.5%) se encuentra en un punto intermedio a la reportada internacionalmente (desde 0.5% hasta 31.4%)<sup>12,13</sup>, y es menor que la única otra reportada en Latinoamérica (10.7% en Brasil)<sup>11</sup>. Si bien no se hizo un análisis de los factores asociados a la resistencia a antimicrobianos en este estudio, entre las explicaciones posibles habría que considerar los diferentes patrones de uso de antibióticos y prevalencia en general de microorganismos multidrogosresistentes, así como la prevalencia en general de *Enterococcus* como agentes infecciosos, la cual es menor en México que en Brasil.<sup>3</sup>

Destaca particularmente en los aislados PRASEF la alta tasa de resistencia a piperacilina (+/- tazobactam), que fue de 100%, en comparación con 3.5% en los aislados susceptibles a penicilina. Esto es altamente consistente con lo reportado en otras series, en particular en Brasil, donde ha reportado la misma tasa de resistencia.<sup>3</sup> Si bien la resistencia a piperacilina en otros sitios ha sido alta, existe variación en lo observado en diferentes países, desde 66% en Singapur hasta 100% en Brasil.<sup>3,13</sup> Es probable que esto se deba, al menos en parte, a los ya mencionados problemas en la determinación de susceptibilidad a este antibiótico, así como la falta de puntos de corte bien establecidos.

Para imipenem se encontró una tasa considerablemente menor de no susceptibilidad entre cepas PRASEF (12.5%, 1 aislado). Si bien en otros estudios se ha reportado una tasa menor de resistencia a este antibiótico que a piperacilina (por ejemplo, 73.5 vs 100% en Brasil)<sup>3</sup>, al tratarse de un solo aislado en nuestra serie no es posible establecer conclusiones al respecto. Probablemente se requeriría de una muestra mayor para determinar la verdadera prevalencia de resistencia a este antibiótico entre aislados con fenotipo PRASEF.

Como era de esperarse, en el total de la muestra se encontró una concordancia elevada entre la susceptibilidad a ampicilina y penicilina (95.5%) e imipenem (95.5%). Para piperacilina, la tasa fue más baja (92.1%) pero no muy distante de lo reportado en estudios realizados en los 90s.<sup>22</sup> Esto está dado por una prevalencia baja de aislados PRASEF; sin embargo, debe considerarse que, utilizando la resistencia a ampicilina como subrogado, no se habría detectado ninguno de los aislados resistentes a piperacilina o intermedios a imipenem. Esto contrasta considerablemente con los estudios realizados en los 90s y 00s, donde se reportaba una concordancia casi perfecta entre

la susceptibilidad a ampicilina y estos dos beta-lactámicos.<sup>8,22</sup> Sin embargo, es fundamental destacar que en estos estudios no se determinó la resistencia a penicilina o su prevalencia fue casi nula, de tal forma que los aislados PRASEF, reportados apenas desde 2006, no parecen haber estado representados en estos estudios.

La concordancia entre los dos métodos estudiados de susceptibilidad a antimicrobiana fue elevada para ampicilina e imipenem, con tasas de acuerdo categórico de 100% y 99.4%, respectivamente. Si bien la concordancia para penicilina y piperacilina, que fue algo menor, aún parece bastante elevada (acuerdo categórico en 96.6% y 92.1%, respectivamente). Debe considerarse que la difusión en disco no detectó ninguno de los aislados no susceptibles a piperacilina o imipenem, dando así una sensibilidad de 0% para ambos. La tasa de errores graves fue de 100% para piperacilina (+/- tazobactam) y de 12.5% para penicilina, ambas muy por encima del 3% considerado como aceptable por CLSI.<sup>21</sup> En el caso de imipenem, se encontró una tasa de errores menores de 100%, nuevamente por encima del 10% considerado adecuado por CLSI.<sup>21</sup> Estos resultados, si bien deberán corroborarse en una población con una mayor prevalencia de aislados PRASEF, sugieren que los resultados de susceptibilidad antimicrobiana por DD para piperacilina e imipenem deben utilizarse cautelosamente, e idealmente se debería tratar de hacer la determinación por otro método.

Con respecto a la distribución de CIM de todos los aislados, pueden verse agrupaciones claras, que parecen sugerir una correlación entre la penicilina y los diferentes beta-lactámicos. Así, si bien no hubo aislados resistentes a ampicilina, los aislados con CIMs elevadas para penicilina (resistentes o en el límite superior del rango de resistencia) tendieron a presentar CIMs en los límites superiores del rango para ampicilina, piperacilina e imipenem. Debe considerarse nuevamente que no existe un punto de corte clínico bien establecido para determinar la susceptibilidad a piperacilina o imipenem, de tal forma que las mayores CIMs en estos aislados es un hallazgo cuya implicación clínica deberá eventualmente estudiarse, y que podría eventualmente tener implicaciones para la elección del mejor tratamiento antibiótico de pacientes con infecciones por bacterias con este fenotipo.

Este estudio tiene varias limitantes. En primer lugar, se tiene la baja prevalencia de aislados PRASEF, que fue menos del 10-30% de los estimado inicialmente con lo reportado en la literatura.

Esto hace complejo y limita la generalización de los resultados del estudio. Adicionalmente, se trabajó exclusivamente con aislados almacenados por varios años en ultracongelación, con el riesgo que esto implica de pérdida de genes de resistencia, por lo que valdría la pena replicarlo en muestras obtenidas de forma prospectiva; sin embargo, el proceso de ultracongelación se realizó de forma estandarizada y adecuada, limitando así el impacto en los resultados. Finalmente, dada la naturaleza retrospectiva del estudio y su intención primaria, no se evaluó los tratamientos administrados y desenlaces clínicos de los pacientes con cuyas muestras se realizó. Tampoco fue posible hacer un análisis del mecanismo de resistencia entre los aislados PRASEF ni determinar la relación de los aislados con este fenotipo.

Hay varios puntos destacables que dan fortaleza al estudio. En primer lugar, se consideró una muestra de tamaño considerable, incluso mayor que la estimada en un análisis de tamaño de muestra exploratorio. Todos los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo con un protocolo de trabajo bien estandarizado y en apego a las recomendaciones internacionales (CLSI/EUCAST) para la determinación de susceptibilidad. Estas pruebas se realizaron por duplicado y fueron evaluadas por dos microbiólogos expertos, lo que brinda robustez y credibilidad a los resultados. También debe destacarse que al utilizar los dos métodos de determinación de susceptibilidad (DD y MDC) no sólo pudo compararse un método (DD) con el estándar de oro (MDC), sino que además se evitó el problema de resultados discordantes por la metodología empleada, al elegirse tanto el método de referencia como otro método de uso ampliamente diseminado en los laboratorios de microbiología.

## **CONCLUSIONES**

Dados los resultados y el análisis mencionado previamente, puede concluirse, en primer lugar, que en las muestras clínicas analizadas efectivamente existen aislados de *E. faecalis* con fenotipo PRASEF, con una prevalencia de 4.5%, en el rango inferior de lo reportado internacionalmente.

Tal como se reportó en otros estudios, los aislados con este fenotipo muestran mayores tasas de resistencia a piperacilina e imipenem. Asimismo, entre los aislados de *E. faecalis*, incluyendo aquéllos susceptibles a penicilina, hay una tasa más alta de resistencia a piperacilina de lo considerado habitualmente (7.9%).

La discordancia de la susceptibilidad a ampicilina y piperacilina o imipenem en los aislados PRASEF no permite su uso como marcador de susceptibilidad. Esto sugiere que, de considerarse su uso, debería determinarse su susceptibilidad de forma específica. En infecciones causadas por aislados de *E. faecalis* susceptibles a ampicilina y resistentes a penicilina o cuya resistencia a dicho antibiótico no fue estudiada podría no ser recomendable el uso de imipenem o piperacilina.

Si bien no se determinó el mecanismo de resistencia a beta-lactámicos los aislados, parece haber una relación entre las CIM de penicilina y las de ampicilina, piperacilina e imipenem, lo que sugiere que, incluso entre los aislados susceptibles a penicilina, pero con CIMs más elevadas podrá existir una menor susceptibilidad a los demás beta-lactámicos. Sería de gran importancia el análisis de los resultados clínicos con el uso de estos antimicrobianos para determinar el impacto de estas CIM más elevadas y su papel en la elección del tratamiento antimicrobiano.

Estos resultados deberán ser corroborados a nivel regional y nacional para determinar la prevalencia y comportamiento de *E. faecalis* con fenotipo PRASEF y detectar posibles diferencias regionales.

## **REFERENCIAS**

1. Khan, A., Miller, W. R., Axell-House, D., Munita, J. M., & Arias, C. A. (2022). Antimicrobial Susceptibility Testing for Enterococci. *Journal of clinical microbiology*, 60(9), e0084321.
2. Brinkwirth, S., Ayobami, O., Eckmanns, T., & Markwart, R. (2021). Hospital-acquired infections caused by enterococci: a systematic review and meta-analysis, WHO European Region, 1 January 2010 to 4 February 2020. *Euro surveillance: bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, 26(45), 2001628.
3. Huerta-Gutiérrez, R., Braga, L., Camacho-Ortiz, A., Díaz-Ponce, H., García-Mollinedo, L., Guzmán-Blanco, M., Valderrama-Beltrán, S., Landaeta-Nezer, E., Moreno-Espinosa, S., Morfín-Otero, R., Rodríguez-Zulueta, P., Rosado-Buzzo, A., Rosso-Suárez, F., Trindade-Clemente, W., & Wiltgen, D. (2019). One-day point prevalence of healthcare-associated infections and antimicrobial use in four countries in Latin America. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 86, 157–166
4. García-Solache, M., & Rice, L. B. (2019). The Enterococcus: a Model of Adaptability to Its Environment. *Clinical microbiology reviews*, 32(2), e00058-18.
5. Arias, C. A., & Murray, B. E. (2012). The rise of the Enterococcus: beyond vancomycin resistance. *Nature reviews. Microbiology*, 10(4), 266–278.
6. Panesso, D., Reyes, J., Rincón, S., Díaz, L., Galloway-Peña, J., Zurita, J., Carrillo, C., Merentes, A., Guzmán, M., Adachi, J. A., Murray, B. E., & Arias, C. A. (2010). Molecular epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*: a prospective, multicenter study in South American hospitals. *Journal of clinical microbiology*, 48(5), 1562–1569.
7. Pfaller, M. A., Cormican, M., Flamm, R. K., Mendes, R. E., & Jones, R. N. (2019). Temporal and Geographic Variation in Antimicrobial Susceptibility and Resistance Patterns of Enterococci: Results From the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-2016. *Open forum infectious diseases*, 6(Suppl 1), S54–S62.
8. Weinstein M. P. (2001). Comparative evaluation of penicillin, ampicillin, and imipenem MICs and susceptibility breakpoints for vancomycin-susceptible and vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. *Journal of clinical microbiology*, 39(7), 2729–2731.
9. Weinstein, M. P., Mirrett, S., Kannangara, S., Monahan, J., Harrell, L. J., Wilson, A. C., & Reller, L. B. (2004). Multicenter evaluation of use of penicillin and ampicillin as surrogates for in vitro testing of susceptibility of enterococci to imipenem. *Journal of clinical microbiology*, 42(8), 3747–3751.
10. Murray B. E. (1992). Beta-lactamase-producing enterococci. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 36(11), 2355–2359.
11. Conceição, N., de Oliveira, C.daC., da Silva, L. E., de Souza, L. R., & de Oliveira, A. G. (2012). Ampicillin susceptibility can predict in vitro susceptibility of penicillin-resistant, ampicillin-susceptible *Enterococcus faecalis* Isolates to amoxicillin but not to imipenem and piperacillin. *Journal of clinical microbiology*, 50(11), 3729–3731.

12. Metzidie, E., Manolis, E. N., Pournaras, S., Sofianou, D., & Tsakris, A. (2006). Spread of an unusual penicillin- and imipenem-resistant but ampicillin-susceptible phenotype among *Enterococcus faecalis* clinical isolates. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 57(1), 158–160.
13. Tan, Y. E., Ng, L. S., & Tan, T. Y. (2014). Evaluation of *Enterococcus faecalis* clinical isolates with 'penicillin-resistant, ampicillin-susceptible' phenotype as reported by Vitek-2 Compact system. *Pathology*, 46(6), 544–550.
14. López-Salas, P., Llaca-Díaz, J., Morfin-Otero, R., Tinoco, J. C., Rodriguez-Noriega, E., Salcido-Gutierrez, L., González, G. M., Mendoza-Olazarán, S., & Garza-González, E. (2013). Virulence and antibiotic resistance of *Enterococcus faecalis* clinical isolates recovered from three states of Mexico. Detection of linezolid resistance. *Archives of medical research*, 44(6), 422–428.
15. Kim, D., Lee, H., Yoon, E. J., Hong, J. S., Shin, J. H., Uh, Y., Shin, K. S., Shin, J. H., Kim, Y. A., Park, Y. S., & Jeong, S. H. (2019). Prospective Observational Study of the Clinical Prognoses of Patients with Bloodstream Infections Caused by Ampicillin-Susceptible but Penicillin-Resistant *Enterococcus faecalis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 63(7), e00291-19.
16. Conceição, N., da Silva, L. E., Darini, A. L., Pitondo-Silva, A., & de Oliveira, A. G. (2014). Penicillin-resistant, ampicillin-susceptible *Enterococcus faecalis* of hospital origin: pbp4 gene polymorphism and genetic diversity. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 28, 289–295.
17. Conceição, N., Rodrigues, W. F., de Oliveira, K. L. P., da Silva, L. E. P., de Souza, L. R. C., da de Cunha Hueb Barata Oliveira, C., & de Oliveira, A. G. (2020). Beta-lactams susceptibility testing of penicillin-resistant, ampicillin-susceptible *Enterococcus faecalis* isolates: a comparative assessment of Etest and disk diffusion methods against broth dilution. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 19(1), 43.
18. CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Novena Edición. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
19. Lines, T. H., Greene, M. H., Nesbitt, W. J., Stratton, C. W., & Schmitz, J. E. (2019). *Enterococcus faecalis* and Penicillin Susceptibility Testing: The Challenge of Multiple Methods and Agent-to-Agent Predictions. *The journal of applied laboratory medicine*, 3(4), 730–732. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1373/jalm.2018.027821>.
20. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing ; Twenty third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.
21. Humphries, R. M., Ambler, J., Mitchell, S. L., Castanheira, M., Dingle, T., Hindler, J. A., Koeth, L., Sei, K., & CLSI Methods Development and Standardization Working Group of the Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing (2018). CLSI Methods Development and Standardization Working Group Best Practices for Evaluation of Antimicrobial Susceptibility Tests. *Journal of clinical microbiology*, 56(4), e01934-17. <https://doi.org/10.1128/JCM.01934-17>.

22. Murray, P. R., Cantrell, H. F., & Lankford, R. B. (1994). Multicenter evaluation of the in vitro activity of piperacillin-tazobactam compared with eleven selected beta-lactam antibiotics and ciprofloxacin against more than 42,000 aerobic gram-positive and gram-negative bacteria. In Vitro Susceptibility Surveillance Group. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, *19*(2), 111–120. [https://doi.org/10.1016/0732-8893\(94\)90121-x](https://doi.org/10.1016/0732-8893(94)90121-x).