

SENSIBILIDAD A FOSFOMICINA EN *Escherichia coli* PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO

Sheyber J. Lifonzo-Mucha^{1,a}, Paula E. Tamariz-Zamudio^{1,a}, Roky G. Champi-Merino^{2,3,b}

RESUMEN

Las infecciones urinarias son causadas mayormente por *Escherichia coli* (*E. coli*), el uso indiscriminado de antibióticos ha originado un aumento de infecciones por cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Con el objetivo de determinar la sensibilidad a fosfomicina se realizó un estudio en cepas de *E. coli* productoras de BLEE aisladas de urocultivos provenientes de un hospital de Perú. Se recolectaron 266 cepas de *E. coli* identificadas por métodos convencionales como productoras de BLEE. Se determinó la sensibilidad de fosfomicina por concentración inhibitoria mínima mediante el método de dilución en agar y por el método de disco difusión. Se encontró 192 (72,2 %) cepas de *E. coli* productora de BLEE sensibles a fosfomicina. Se concluye que la fosfomicina presenta actividad antimicrobiana frente a cepas de *E. coli* productoras de BLEE, y podría ser considerada una buena opción terapéutica frente a cepas resistentes.

Palabras clave: *Escherichia coli*; *Betalactamasas*; *Fosfomicina*; *Infección urinaria* (fuente: DeCS BIREME)

SENSITIVITY TO FOSFOMYCIN IN EXTENDED-SPECTRUM BETA-LACTAMASE-PRODUCING *Escherichia coli*

ABSTRACT

Urinary infections are caused mainly by *Escherichia coli* (*E. coli*); indiscriminate use of antibiotics has caused an increase in infections due to extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing strains. Aiming to determine the sensitivity to fosfomicin, a study was conducted in ESBL-producing *E. coli* strains isolated from urine cultures at a hospital in Peru. Two hundred and sixty-six (266) strains of *E. coli* were collected, which were determined by conventional methods to be ESBL-producing. Sensitivity to fosfomicin was determined through minimum inhibitory concentration with the agar dilution method and the diffusion disc method. One hundred and ninety-two (192) (72.2%) strains of ESBL-producing *E. coli* strains sensitive to Fosfomicin were found. It, therefore, follows that fosfomicin exhibits antimicrobial activity against ESBL-producing *E. coli* strains and that it could be considered a good treatment option for resistant strains.

Keywords: *Escherichia coli*; *Betalactamasas*; *Fosfomicin*; *Urinary infections* (source: MeSH NLM)

INTRODUCCIÓN

Las infecciones urinarias (IU) constituyen una de las patologías infecciosas más frecuentes en la comunidad y en el ámbito hospitalario. Se estima que la incidencia mundial de IU es de 2 a 3 casos por 100 habitantes al año ⁽¹⁾, representando un problema clínico y de gran repercusión económica ⁽²⁾. *Escherichia coli* (*E. coli*) es el microorganismo uropatógeno más frecuente ⁽³⁾. Debido a esto, es importante seleccionar

un tratamiento empírico hasta contar con el resultado del urocultivo y antibiograma, por lo que se requiere de nuevos enfoques para abordar este tratamiento debido a la aparición de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en todo el mundo ⁽⁴⁾. En diversos países la resistencia antimicrobiana ha ido en aumento ⁽⁵⁾.

Un estudio realizado en pacientes ambulatorios con IU en Perú encontró que el 41 % de *E. coli* eran productora

¹ Facultad de Tecnología Médica, Universidad Nacional Federico Villarreal. Lima, Perú.

² Hospital Nacional Hipólito Unanue. Lima, Perú.

³ Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Peruana Unión. Lima, Perú.

^a Bachiller de Tecnología Médica; ^b tecnólogo médico

Recibido: 18/01/2018 Aprobado: 07/03/2018 En línea: 23/03/2018

Este artículo forma parte de la tesis "Sensibilidad a fosfomicina en *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido" de la autora Sheyber J. Lifonzo-Mucha, para optar el título profesional de Tecnólogo Médico en la Universidad Nacional Federico Villarreal el 2017

Citar como: Lifonzo-Mucha SJ, Tamariz-Zamudio PE, Champi-Merino RG. Sensibilidad a fosfomicina en *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2018;35(1):68-71. doi: 10.17843/rpmpes.2018.351.3566.

de BLEE, evidenciando un alto grado de resistencia para los fármacos comúnmente utilizados en la práctica clínica y considerados como de primera línea por las guías internacionales en el manejo inicial de la IU ⁽⁶⁾.

Es recomendable un antibiótico con una alta eficacia sobre el agente sospechado, con muy buena distribución corporal, alta concentración en vías urinarias y baja toxicidad, con respuesta rápida y efectiva al tratamiento, que evite la recurrencia y la aparición de resistencia antimicrobiana. En este sentido, la fosfomicina posee acción bactericida, es de amplio espectro, inhibe la síntesis de la pared bacteriana uniéndose por competición, por ser análogo al Mur A, y no presenta resistencia cruzada con ningún otro antibiótico ⁽⁷⁾, además presenta tasas de resistencia menores al 5 % ⁽⁸⁾.

Son escasos los estudios sobre la sensibilidad de *E. coli* productora de BLEE aislados de urocultivos frente a fosfomicina en Perú. El objetivo de este estudio fue determinar la sensibilidad a fosfomicina en cepas de *E. coli* productoras de BLEE aisladas de urocultivos, adicionalmente se evaluó la concordancia entre las técnicas de dilución en agar y disco difusión, además de evaluar los parámetros diagnósticos de estos métodos.

EL ESTUDIO

Se realizó un estudio transversal en el Hospital Nacional Hipólito Unanue (HNHU), el cual es un hospital general de complejidad III-1 ubicado en la zona este de Lima, que atiende a una población aproximada de 2,6 millones de personas, con atención en especialidades médicas y quirúrgicas en servicios de consulta externa y hospitalización de pacientes adultos y pediátricos ⁽⁹⁾. La recolección de muestras fue realizada durante enero a diciembre de 2016.

PROCEDIMIENTOS

El aislamiento primario se realizó sembrando las muestras de orina en medios de cultivo según métodos convencionales estandarizados en el laboratorio de microbiología del HNHU. Se recolectaron e identificaron cepas de *E. coli* de urocultivos de pacientes procedentes de los servicios de consulta externa y hospitalización. Se excluyeron los aislamientos repetidos por paciente, por la posibilidad de sobrestimar la sensibilidad. Los datos del urocultivo y pruebas de sensibilidad fueron tomados de los registros del servicio de microbiología del HNHU. Las cepas fueron conservadas en caldo tripticosa de soya (TSB) con glicerol al 20 % y almacenadas a -20 °C hasta su procesamiento.

PRODUCCIÓN DE BLEE

Se consideraron cepas productoras de BLEE aquellas con tamizaje laboratorial positivo y confirmación fenotípica con antibióticos basada en la demostración de sinergia con cefotaxima, ceftazidima y ácido clavulánico, seleccionados en la prueba de difusión en disco, siguiendo los estándares de la Health Protection Agency ⁽¹⁰⁾.

MENSAJES CLAVE

Motivación para realizar el estudio. La resistencia antimicrobiana es un problema global. Se reconoce que la *Escherichia coli* es el principal patógeno de las vías urinarias, además de presentar una alta frecuencia de cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), lo que motiva a investigar nuevas alternativas de tratamiento.

Principales hallazgos. De las 266 cepas productoras de BLEE analizadas, el 72,2 % resultó ser sensible a fosfomicina, confirmado por métodos disco difusión y de dilución en agar.

Implicancias. Al encontrar altas tasas de sensibilidad frente a fosfomicina en cepas BLEE, consideramos que el uso responsable de este fármaco, aunado con programas de vigilancia, permitirán prevenir la emergencia y diseminación de gérmenes resistentes.

PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A FOSFOMICINA

Técnica de disco difusión (DD)

La sensibilidad de fosfomicina frente a las cepas estudiadas se determinó por la técnica de Kirby-Bauer. Se realizó la estandarización del inóculo bacteriano de *E. coli*, con un subcultivo de colonias del microorganismo, que fueron suspendidas en solución salina fisiológica estéril; ajustándose al patrón de turbidez 0,5 de la escala de Mc Farland, verificado con un turbidímetro. Utilizando discos de fosfomicina de 200 µg que contiene 50 µg de glucosa-6-fosfato recomendado en las guías del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ⁽²⁰⁾.

Técnica de dilución en agar (DA)

La concentración mínima inhibitoria (CMI) se determinó por este método de referencia recomendado por el CLSI ⁽¹¹⁾, en agar Müller Hinton suplementado con 25 µg/mL de glucosa-6-fosfato (Sigma-Aldrich®) y fosfomicina disódica (Sigma-Aldrich®), se ensayaron tres concentraciones de fosfomicina: 64 µg/ml, 128 µg/ml y 256 µg/ml.

En todas las pruebas antes descritas se utilizaron dos cepas control: ATCC 35218 y ATCC 25922, *Escherichia coli* productor de BLEE y no productor de BLEE, respectivamente.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó el cálculo de frecuencias y porcentajes para determinar la sensibilidad a fosfomicina de los métodos utilizados. Además, se estimó los valores de sensibilidad, especificidad, valores predictivos del método de DD, considerando un nivel de confianza de 95%. El análisis estadístico se realizó utilizando el programa Whonet 5.6 y Excel. Se determinó la concordancia de los métodos usando el coeficiente de correlación Kappa de Cohen.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El protocolo del estudio fue aprobado por el comité institucional de ética en investigación del HNHU. No se

requirió consentimiento informado debido a que solo se analizaron las cepas aisladas.

HALLAZGOS

Se incluyeron 266 cepas de *E. coli* productoras de BLEE aisladas de urocultivos. Con el método de DA, 192 (72,2 %) cepas fueron sensibles frente a fosfomicina (CMI \leq 64 μ g/ml), 10 (3,8 %) cepas presentaron sensibilidad intermedia (CMI 128 μ g/ml) y 64 (24,1 %) cepas resultaron ser resistentes (CMI \geq 256 μ g/ml). Mediante el método de DD, 193 (72,6 %) cepas fueron sensibles a fosfomicina, 7 (2,6 %) cepas presentaron sensibilidad intermedia y 66 (24,8 %) cepas resultaron ser resistentes frente a fosfomicina. En el método de DD se obtuvo tres falsos negativos y cuatro falsos positivos.

Además, de manera preliminar se realizó el cálculo de los parámetros diagnósticos del método de DD, usando como patrón de referencia al método DA, mostrando una sensibilidad de 98,4 % y una especificidad de 94,6 %; con una exactitud diagnóstica de 97,4 %. La seguridad diagnóstica se expresó mediante los valores predictivos positivo y negativo: VPP: 97,9 % y VPN: 95,9 %. El índice de concordancia de kappa (k) entre el método de DD y el método de referencia (DA) fue de 0,93, lo que se considera una excelente concordancia.

DISCUSIÓN

Las infecciones urinarias se diagnostican en el 75 % a 80 % de los pacientes que acuden a consulta hospitalaria ⁽¹²⁾, lo que permite un manejo y tratamiento adecuado. Una investigación realizada en toda América Latina, muestra que el 32 % de cepas de *E. coli* aisladas clínicamente son productoras de BLEE ⁽¹³⁾. En el 2011, un programa regional de vigilancia de la resistencia en 11 países latinoamericanos encontró cepas de *E. coli* productoras de BLEE en México con 71%, Guatemala con 59 %, y en tercer lugar a Perú con 54 % ⁽¹³⁾. Montañez-Valverde *et al.*, Galván *et al.* y Yupanqui *et al.* reportaron frecuencias de 39,4 %, 16,3 % y 26,5 % respectivamente, de cepas de *E. coli* productoras de BLEE aisladas de urocultivo ^(5,6,14). Se observa que los datos presentan una distribución variable.

La concordancia entre ambos métodos fue excelente (índice Kappa 0,93), similar a lo reportado por Falagas *et al.* ⁽¹⁵⁾. Observamos una sensibilidad a fosfomicina del 72,2 %, inferior a lo reportado por Hirsch *et al.* con un 96,7 % ⁽¹⁶⁾, valores similares se presentan en estudios realizadas en Europa y Norteamérica. Sin embargo, en investigaciones realizadas en Latinoamérica se presentan frecuencias de sensibilidad a fosfomicina del 72 % al 84 % ^(6,17), similar a nuestros hallazgos.

Según tenemos conocimiento, este es el primer estudio realizado en nuestro país para evaluar la sensibilidad a fosfomicina según la CMI por dilución en agar, siendo este,

el método de referencia recomendado por CLSI, dado que los métodos comerciales basados en la CMI de dilución en caldo presentan ciertas limitaciones.

La técnica de disco difusión presentó una excelente concordancia con la técnica de referencia, por ser muy factible su implementación sería recomendable su uso en nuestro medio frente a este fenotipo de cepas resistentes.

La elevada resistencia a fosfomicina quizás se deba al aumento de su uso en la comunidad, algunos autores lo asocian al genotipo CTX-M ⁽¹⁸⁾. Esta observación es importante debido a que el gen que confiere resistencia a fosfomicina mediado por plásmidos ha surgido en cepas con genotipo CTX-M ⁽⁷⁾. Sin embargo, las cepas de *E. coli* productoras de BLEE sensibles a fosfomicina son del genotipo CTX-M grupo 1 y 9 ⁽¹⁹⁾. Contrario a esto, se ha reportado en nuestro país un 26,4 % de resistencia a fosfomicina en cepas de *E. coli* BLEE con el genotipo CTX-M (grupos 1 a 17 y del 19 a 22) ⁽⁶⁾. Por lo que es necesario investigar esta correlación caracterizando molecularmente los genes implicados.

La fosfomicina es una buena opción en el tratamiento de IU por *E. coli* multiresistente, está contraindicado cuando existe hipersensibilidad conocida, además de forma leve y autolimitada trastornos gastrointestinales, pero no afecta la función renal; todo esto, con una baja incidencia en la población ⁽¹⁵⁾.

El presente trabajo tiene algunas limitaciones, como la poca validez externa, ya que fue realizado en un único centro hospitalario, ubicado en la zona este de Lima, que atiende mayoritariamente a pacientes con Seguro Integral de Salud. Si bien, los hallazgos de este estudio solo serían aplicables a la población atendida por este hospital, nuestra intención es llamar la atención sobre la presencia, cada vez mayor, de bacterias multidrogas resistentes y la alternativa de uso de fosfomicina, antibiótico que cuenta todavía con una alta sensibilidad antimicrobiana.

En conclusión, nuestro estudio demuestra que la fosfomicina presenta actividad antimicrobiana frente a cepas productoras de BLEE, por lo que podría ser una buena alternativa terapéutica frente a cepas resistentes.

Agradecimientos: Al personal profesional, tecnólogos médicos y técnicos del Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular de Hospital Nacional Hipólito Unanue que colaboraron con este estudio.

Contribuciones de autoría: SJLM, PETZ y RGCM, participaron en la concepción, diseño y redacción del manuscrito, además, realizaron la recolección y análisis de datos. Todos los autores revisaron y aprobaron la versión final del manuscrito.

Financiamiento: Autofinanciado

Conflictos de interés: Los autores declaran no tener conflictos de interés en la publicación de este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Calle Núñez A, Colqui Campos KA, Rivera Estrella DA, Cieza Zevallos JA. Factores asociados a la presentación de infecciones urinarias por *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido. *Rev Med Hered.* 2017;28(3):142-9. doi: 10.20453/rmh.v28i3.3180.
2. Pigrau C. Infección del tracto urinario. 1 ed. Barcelona: Editorial Salvat, 2013.
3. Seija V, Frantchez V, Pintos M, Bataglino MN, Torales M, Díaz A, *et al.* Etiología de la infección urinaria de adquisición comunitaria y perfil de susceptibilidad de *Escherichia coli* a los principales agentes antimicrobianos. *Rev Méd Urug.* 2010;26(1):14-24.
4. Ben-Ami R, Rodríguez-Baño J, Arslan H, Pitout J, Quentin C, Calbo E, *et al.* A Multinational Survey of Risk Factors for Infection with Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Non hospitalized Patients. *Clin Infect Dis.* 2009;49(5):682-90. doi: 10.1086/604713.
5. Montañez-Valverde RA, Montenegro-Idrogo JJ, Arenas-Significación FR, Vásquez-Alva R. Infección urinaria alta comunitaria por *E. coli* resistente a ciprofloxacino: características asociadas en pacientes de un hospital nacional en Perú. *An Fac med.* 2015;76(4):385-91. doi:10.15381/anales.v76i4.11408.
6. Galván F, Agapito J, Bravo N, Lagos J, Tamariz J. Caracterización fenotípica y molecular de *Escherichia coli* productoras de β -Lactamasas de espectro extendido en pacientes ambulatorios de Lima, Perú. *Rev Med Hered.* 2017;27(1):22-9.
7. Gobernado M. Fosfomicina. *Rev Esp Quimioter.* 2003;16(1):15-40.
8. Maraki S, Samonis G, Rafailidis P, Vouloumanou E, Mavromanolakis E, Falagas M. Susceptibility of Urinary Tract Bacteria to Fosfomicin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(10):4508-10. doi: 10.1128/AAC.00721-09.
9. Ministerio de Salud. Análisis Situacional de Salud del Hospital Nacional Hipólito Unanue 2015 [Internet]. Lima: Oficina de Epidemiología y Salud Ambiental del HNHU; 2015. [citado 20 de noviembre de 2017]. Disponible en: <http://www.hnhu.gob.pe/CUERPO/EPIDEMIOLOGIA/ASIS/ASIS%20HNHU%202015.pdf>
10. Public Health England. UK Standards for Microbiology Investigations. SMI B59. Detection of Enterobacteriaceae producing extended spectrum β -lactamases. London: PHE; 2016. Disponible en: https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/546745/B_59i4.1.pdf
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard Ninth Edition (M07-A9). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
12. Jimenez J, Carballo K, Chacón N. Manejo de infecciones del tracto urinario. *Rev Costarric Salud Pública.* 2017;26(1):1-10.
13. Rocha C, Reynolds ND, Simons MP. Resistencia emergente a los antibióticos: una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2015; 32(1):139-45.
14. Yupanqui Sandoval SR. Prevalencia de *Escherichia coli* BLEE en Urocultivos del Hospital Central FAP en el periodo enero-junio 2016 [Tesis]. Lima, Perú: Universidad Ricardo Palma; 2017.
15. Falagas ME, Vouloumanou EK, Samonis G, Vardakas KZ. Fosfomicin. *Clin Microbiol Rev.* 2016;29(2):321-47. doi: 10.1128/CMR.00068-15.
16. Hirsch E, Zucchi P, Chen A, Raux B, Kirby J, McCoy C, *et al.* Susceptibility of multidrug-resistant Gram-negative urine isolates to oral antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(5):3138-40. doi: 10.1128/AAC.02961-15.
17. Ortega Ortega MS. Determinación de Beta-lactamasas de Espectro Extendido en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* a través de pruebas moleculares en urocultivos provenientes de pacientes ambulatorios con infecciones de vías urinarias. [Tesis]. Quito, Ecuador: Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales, Universidad San Francisco de Quito; 2017.
18. Karlowsky J, Denisuik A, Lagacé-Wiens P, Adam H, Baxter M, Hoban D *et al.* In vitro activity of fosfomicin against *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infections in Canada as part of the CANWARD surveillance study. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(2):1252-6. doi: 10.1128/AAC.02399-13.
19. Zykov IN, Sundsfjord A, Småbrekke L, Samuelsen O. The antimicrobial activity of mecillinam, nitrofurantoin, temocillin and fosfomicin and comparative analysis of resistance patterns in a nationwide collection of ESBL-producing *Escherichia coli* in Norway 2010-2011. *Infect Dis (Lond).* 2016;48(2):99-107. doi: 10.3109/23744235.2015.1087648.
20. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.

Correspondencia: Roky G. Champi Merino
 Dirección: Pasaje Ocopampa 778. Cercado de Lima. Lima, Perú.
 Teléfono: (+511) 997600875
 Correo electrónico: rokycha@yahoo.com