



ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DE FOSFOMICINA

Dra. María Isabel Morosini

Servicio de Microbiología
Hospital Universitario Ramón y Cajal
Madrid

Facultativo especialista en Microbiología y Parasitología, responsable de la Sección de Identificación y Sensibilidad Antibiótica del Servicio de Microbiología del HU Ramón y Cajal, secretaria de la Comisión de Política de Antimicrobianos, vocal de la Comisión de Infección Hospitalaria y miembro del Grupo del Programa PROA. Forma parte como investigadora colaboradora de proyectos de la Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI) relacionados con la resistencia antibiótica. Es docente del programa anual del Máster en Microbiología y Parasitología «Bases moleculares de la patogenia y terapia antimicrobiana y antiparasitaria» del Departamento de Microbiología II de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid

La doctora María Isabel Morosini comenzó su ponencia agradeciendo a todos los asistentes su atención, así como a Laboratorios ERN por haber organizado esta jornada y a los moderadores, los doctores Cantón y Pintado, por haberla invitado a participar. Su ponencia se centró en tratar las principales características de Fosfomicina y, en concreto, la información que disponemos de los estudios *in vitro* en cuanto a sensibilidad y otros conceptos.

HISTORIA

La ponencia de la Dra. Morosini empezó con unas pinceladas históricas recordando que Fosfomicina fue descubierta en España y que su hallazgo se publicó en Science (1) en 1969. En ese momento, CEPA (Compañía Española de Antibióticos y Penicilina) tenía un proyecto de investigación conjunta con Laboratorios Merck, Sharp & Dohme de EUA. El artículo al que se refirió está firmado, entre otros, por los que fueron los investigadores principales españoles, los doctores Mata, Hernández y Mochales. La Dra. Mochales, en un trabajo que presenta posteriormente en la revista de la SEM, en el año 1994, escribe cómo sucedió el descubrimiento de la molécula. En el artículo cuenta que a partir de unas muestras de tierra recogidas en la Comunidad Valenciana se aisló una cepa de *Streptomyces* que producía un antibiótico nuevo y con unas características muy interesantes. La Dra. Morosini recordó que los microorganismos productores de Fosfomicina pertenecen principalmente al género *Streptomyces* y dentro del mismo destacan *S. fradiae*, *S. viridochromogenes* y *S. wedmorensis*. Finalmente, a partir de 1971, CEPA empezó a fabricar Fosfomicina por fermentación en la fábrica de Aranjuez, siendo actualmente producida por síntesis química.

El bajo peso molecular (138,1 g/mol) de Fosfomicina asegura una alta difusión

“La clave de la actividad antibacteriana radica en su grupo epoxi”

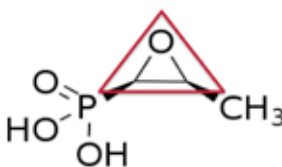
PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS

Después de esta introducción, la Dra. Morosini se centró en las propiedades fisicoquímicas de Fosfomicina (2) (3) y remarcó que “son relevantes en cuanto a que dependen de su estructura tan peculiar”, un ácido *-epoxipropil fosfónico-* que actúa como un análogo estructural del ácido fosfoenolpirúvico. La ponente remarcó algunas de sus características principales:

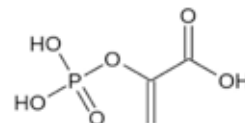
- Bajo peso molecular (138,1 g/mol), que asegura una difusión muy importante: “Es una molécula pequeñísima, de las más pequeñas dentro de los antibióticos”, añadió. Es polar, lo que asegura su solubilidad, y presenta un rango de pH para su actuación muy amplio, de 4 a 11, “siendo óptima a pH ácido entre 5,5 y 6”.
- El anillo clave es el grupo funcional epoxi, al que se debe la actividad antibacteriana, e insistió en la importancia de que es un anillo que únicamente se encuentra en Fosfomicina (diapositiva 3).

Diapositiva 3

Propiedades físico-químicas y estructurales



Fosfomicina: ácido (-) cis 1,2-epoxipropil fosfónico



Ácido fosfoenolpirúvico

- Peso molecular bajo: 138,1 g/mol; difusión
- Molécula polar: solubilidad
- Rango de pH: 4-11 (6,2)

- Grupo funcional epoxi: actividad antibacteriana

Chistensen B.G et al. Science. 1969; 166: 123-4
Stapley E.O et al. Antimicrob Agents Chemother. 1969; 284-90
Woodruff H.B et al. Chemotherapy. 1977; 23: 1-22

La bacteria utiliza la enzima MurA y el sustrato ácido fosfoenolpirúvico para la síntesis de los peptidoglucanos

"La Fosfomicina entra por las dos permeasas y compite con el sustrato natural, el fosfoenolpiruvato; pero, además, presenta mayor afinidad por la enzima MurA, lo que provoca la muerte celular y la posterior lisis"

FORMULACIONES

Se encuentran disponibles tres presentaciones: dos orales -la sal de trometamol y la sal cálcica- y una forma intravenosa -la sal disódica-. Durante su explicación recalcó que en cuanto al mecanismo de acción en condiciones normales o fisiológicas, "la bacteria sintetiza mediante la actividad de la enzima MurA y el sustrato ácido fosfoenolpirúvico, los precursores del peptidoglucano, que son posteriormente enviados a la pared celular a través de la membrana interna" (diapositiva 4).

¿CÓMO ACTÚA FOSFOMICINA?

Después de detallar algunos aspectos de Fosfomicina, la ponente se dispuso a exponer la forma de actuación de esta molécula (4), que entra a través de dos permeasas de las bacterias. La bacteria en condiciones normales las utiliza para incorporar nutrientes, el glicerol-3-fosfato y la glucosa-6-fosfato, respectivamente. "Fosfomicina entra por estas dos permeasas y compite con el sustrato natural, el *fosfoenolpiruvato*, pero además presenta mayor afinidad por la enzima MurA (enolpiruvil transferasa) que el sustrato natural. La célula, al carecer de precursores para la pared, finalmente muere y se lisa" (diapositiva 6).

Diapositiva 4

Formulaciones

Oral

Sal de trometamol

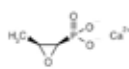
Sal cálcica

Intravenosa

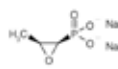
Sal disódica



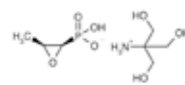
Fosfomicina



cálcica



disódica

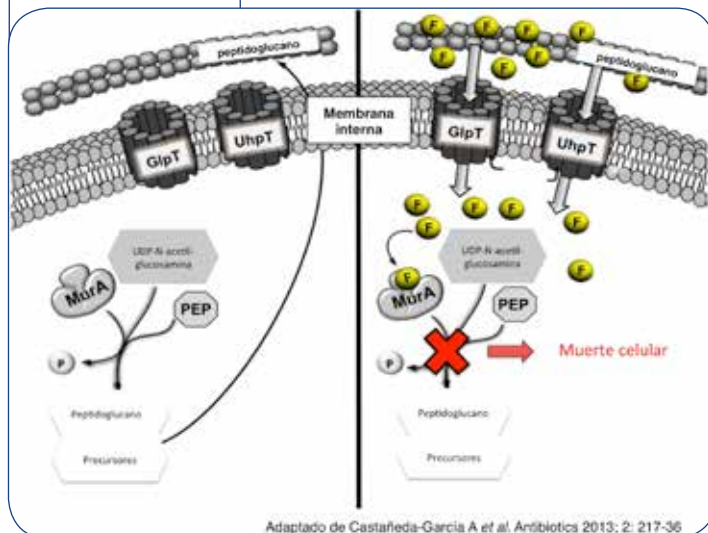


trometamol

Diapositiva 6

Fosfomicina tiene un mecanismo de acción único, lo que condiciona el hecho de que no exista ningún tipo de posibilidad de resistencia cruzada con este compuesto

Fosfomicina tiene capacidad sinérgica con los grandes grupos betalactámicos, aminoglucósidos y fluoroquinolonas [7]



GENERALIDADES SOBRE LA ACTIVIDAD *IN VITRO* DE FOSFOMICINA

Fosfomicina tiene un mecanismo de acción único, lo que condiciona el hecho de que no exista ningún tipo de posibilidad de resistencia cruzada con este compuesto.

Se trata de un compuesto bactericida, siguió la Dra. Morosini, que actúa esencialmente sobre bacterias en fase de crecimiento [5], que es cuando la bacteria está produciendo los precursores de la pared. También tiene actividad en *biofilm*, más sobre las células planctónicas que sobre las sésiles, básicamente porque la población sésil no está en crecimiento. Por esta razón, la experta recordó: «La utilización de Fosfomicina requiere la combinación con otros antibióticos».

Y continuó exponiendo que Fosfomicina tiene un amplio espectro de acción, ya que cubre grampositivos y gramnegativos, aerobios y anaerobios. Tiene actividad frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, así como a estafilococos coagulasa negativos resistentes a meticilina, enterococos resistentes a la vancomicina (EVR), *Streptococcus pneumoniae* resistentes a penicilina, enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido y carbapenemasas y *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes (6) y concluyó: "Si bien todos los microorganismos requieren la confirmación de su sensibilidad *in vitro*, estos microorganismos 'conflictivos' la requieren aún más".

Antes de terminar con este punto, la doctora recordó que se trata de un compuesto con una capacidad sinérgica con las grandes familias de antibióticos, β -lactámicos, aminoglucósidos y fluoroquinolonas (7).

"Con respecto a los anaerobios, Fosfomicina cubre un gran grupo de estos microorganismos con diferentes rangos de sensibilidad"

PUNTOS DE CORTE, SENSIBILIDAD Y RANGOS

La Dra. Morosini se refirió a los puntos de corte dejando claro un aspecto: "Realmente tenemos información escasa respecto a este antibiótico por parte de los dos comités internacionales, EUCAST y CLSI".

En los grampositivos, EUCAST solo da punto de corte para la forma intravenosa frente a estafilococos y CLSI solo frente a enterococos causantes de infección urinaria. El rango de CMI_{90} para los estafilococos oscila entre 8 y 32 $\mu\text{g/ml}$. En el caso de los coagulasa negativos, la doctora siguió refiriéndose a las recomendaciones de los comités internacionales: "Cuando se consideren agentes etiológicos confirmados, se requerirá la comprobación de su sensibilidad" (4) (8) (9).

Por lo que se refiere al enterococo, la CMI_{90} es de 64 $\mu\text{g/ml}$, coincidente con el punto de corte de la sensibilidad que da CLSI y solo debemos informarlo cuando son agentes causantes infección urinaria. Para el resto de los estreptococos, el rango habitual de CMI_{90} oscila entre 16 y 32 $\mu\text{g/ml}$. Deben considerarse resistentes a Fosfomicina: *Listeria monocytogenes*, las especies de *Corynebacterium* y las especies de *Nocardia*.

En cambio, por lo que respecta a los gramnegativos, EUCAST da punto de corte para la forma intravenosa en enterobacterias y para la forma oral solo en aquellos microorganismos causantes de infección de tracto urinario no complicado. CLSI da punto de corte para enterobacterias pero considerando solo a *E. coli* causante de infección urinaria y ninguno de los dos comités da puntos de corte clínicos para *Pseudomonas aeruginosa*, si bien EUCAST considera como valor de ECOFF (punto de corte epidemiológico) 128 $\mu\text{g/ml}$ (5) (8) (10).

La Dra. Morosini continuó refiriéndose, después, al rango de CMI_{90} para las enterobacterias, que habitualmente, para las cepas sensibles, oscila entre 4, 8 y 16 $\mu\text{g/ml}$, "si bien el porcentaje de resistencia es más elevado en microorganismos de los géneros *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Serratia*, así como en *Providencia* spp. y *M. morganii*, con una CMI_{90} que puede ser superior a 32 $\mu\text{g/ml}$ ". Deben ser considerados resistentes: *Brucella melitensis*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, con ciertas excepciones *in vitro*, -"pero es mejor ser conservador en este microorganismo que es tan problemático", añadió-, y las especies del complejo *Burkholderia cepacia*. Con respecto a los anaerobios, Fosfomicina cubre un gran grupo de estos microorganismos con diferentes rangos de sensibilidad. "Vemos que es activo en *Veillonella* spp., *Fusobacterium* spp., *Peptococcus*

spp., *Peptostreptococcus* spp., *Prevotella* spp., *Clostridium perfringens*, si bien son resistentes todas las especies del género *Bacteroides*", explicó (11).

Antes de pasar a otro punto, la doctora destacó la sensibilidad de *Haemophilus influenzae* y de las bacterias del género *Neisseria* spp., así como de los enteropatógenos *Yersinia enterocolitica*, Complejo *Aeromonas Hydrophila*, *Vibrio* spp. y *Compylobacter jejuni* (8).

MECANISMOS DE RESISTENCIA ADQUIRIDA A FOSFOMICINA (diapositiva 12)

La Dra. Morosini empezó a tratar este aspecto anunciando que dejaría de lado la resistencia intrínseca y que se centraría en los mecanismos de resistencia adquirida (12) (13) (4), que agrupó en tres apartados:

1. El primer grupo que presentó la doctora es aquel en el que la resistencia se traduce en una disminución de la entrada del compuesto a la célula bacteriana, debido a la pérdida total o parcial de la capacidad funcional de las dos permeasas, por donde entra Fosfomicina. "Se debe a mutaciones en los genes estructurales que codifican las dos permeasas por donde entra Fosfomicina y/o a mutaciones en los genes que regulan su expresión."

Diapositiva 12

Mecanismos de resistencia adquirida

- Disminución de la entrada a la célula bacteriana (pérdida de la capacidad funcional o de la totalidad del transportador)

Mutación(es) en los genes estructurales

✓ *uhpT*

✓ *glpT*

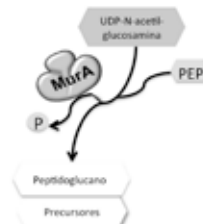
[Mutaciones en los genes reguladores]



- Modificaciones de la diana: MurA

❖ Mutaciones en *murA* (Cys 115 del sitio activo)

❖ Hiperexpresión de *murA*



Eschenburg S et al. J Biol Chem. 2005; 280: 3757-63
Takahata S et al. Int J Antimicrob Agents. 2010; 35: 333-7
Castañeda-García A et al. Antibiotics 2013; 2: 217-36

Uno de los mecanismos de resistencia adquirida se debe a la mutación de las permesas que permiten la entrada a la célula...

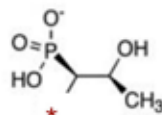
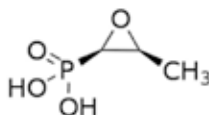
... o bien, la más preocupante es la modificación del antibiótico por transferasas, cuya génesis está vinculada con plásmidos

2. El segundo grupo se refiere a aquel en el que la resistencia es debida a que se produce una modificación en la enzima MurA. En este caso, se puede deber a dos factores.
 - Por un lado, puede haber una mutación en el sitio activo que cambie el aminoácido y haga perder capacidad de acción a la enzima. "Lo que ocurre con este tipo de mutación tiene un coste biológico muy elevado para el microorganismo, porque que no funcione una enzima vital como es MurA es muy grave, ya que la bacteria se queda sin precursores de pared."
 - Por otro lado, puede producirse una sobreexpresión de *murA*, que consiste en que "la enzima se hiperproduce y la cantidad de antibiótico que estamos administrando se ve sobrepasada por la cantidad de enzima que esté sintetizada".
3. Finalmente, el tercer grupo es el que según la Dra. Morosini es más preocupante. Se trata de la modificación del antibiótico por transferasas cuyos genes están vehiculados por plásmidos. La doctora indicó que este caso ha aumentado en ciertas regiones de Asia -China, Japón y Corea, por ejemplo- y hasta el momento, solo en enterobacterias. Las transferasas plasmídicas son de cuatro tipos: Fos A, Fos B, Fos C y Fos X, con sus respectivas variantes, cuando estas existen. "Lo que hacen las transferasas plasmídicas es transferir sustituyentes al carbono de la posición 1: glutatión, ATP o una molécula de agua, lo que consigue abrir el anillo de Fosomicina y producir una molécula que es completamente inactiva" (diapositiva 13).

Diapositiva 13

• **Modificación e inactivación del antibiótico: transferasas plasmídicas**

- Glutatión-S-transferasas (Fos) plasmídicas: Fos A y variantes (A3 y A5)
- Tiol-S (L Cys) transferasa: Fos B
- ATP-transferasa: Fos C y variante (C2)
- Hidrolasa: Fos X



Beharry Z & Patzkil T. J Biol Chem. 2005; 280: 17786-91
 Kitanaka H et al. Antimicrob Agents Chemother. 2014; 58: 4978-9
 Li Z et al. Plos One. 2015; 2: 217-36
 Ma Y et al. Lett Appl Microbiol. 2015; 60: 259-64

CIFRAS GLOBALES DE SENSIBILIDAD *IN VITRO*

Para ofrecer una visión de las cifras globales de la sensibilidad *in vitro*, la experta recurrió a distintas fuentes bibliográficas (14) (15) (16) (17).

En primer lugar, presentó una comparación del porcentaje de sensibilidad a Fosfomicina basándose en bibliografía que describe esta sensibilidad en países que tienen políticas de antibióticos muy diferentes. Ya antes de empezar, asegura: “Nos encontramos con valores interesantes en porcentajes de sensibilidad”. Por ejemplo, en *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de β -lactamasas de espectro extendido causantes de infección urinaria no complicada, los porcentajes de sensibilidad son verdaderamente altos, sobre todo en *E. coli*, con valores de entre el 96,8% y el 100%. En *Klebsiella* la sensibilidad siempre muestra valores más bajos, en este caso el más bajo es 61% (18) (19) (20) (21) (22) (23) (diapositiva 15).

En microorganismos más complicados de manejar, como los productores de carbapenemasas o multirresistentes, en *Klebsiella* o incluso en *Pseudomonas aeruginosa*, los porcentajes de sensibilidad son también verdaderamente altos, entre el 90 y el 100% de sensibilidad, como se comprobó a través de la tabla comparativa que recoge datos de diferentes estudios [29-33] (diapositiva 16).

Diapositiva 15

E. coli y *K. pneumoniae*-BLEE: infección urinaria no complicada

Microorganismos (No.)	Sensibilidad (%)	País	Año de publicación
<i>E. coli</i> (290)	99,7	España	2006
<i>K. pneumoniae</i> (138)	92,8		
<i>E. coli</i> (1657)	96,8	Grecia	2010
<i>K. pneumoniae</i> (748)	81,3		
<i>E. coli</i> (123)	100	Suiza	2011
<i>E. coli</i> (374)	97,6	Argentina	2014
<i>K. pneumoniae</i> (94)	94,7		
<i>E. coli</i> (105)	100	Noruega	2015
<i>E. coli</i> (217)	94,9	Corea	2015
<i>K. pneumoniae</i> (60)	61,7		

De Cueto M et al. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2006; 24: 613-6

Falagas ME et al. *Lancet Infect Dis*. 2010; 10: 45-50

Meier S et al. *Infection*. 2011; 39: 333-40

Villar H.E et al. *J Infect Dev Ctries*. 2014; 8: 699-704

Zykov I.N et al. *Infect Dis (Lond)*. 2015; Sep 28:1-9. [Epub ahead of print]

Cho Y.H et al. *Int Urol Nephrol*. 2015; 47: 1059-66

"Las asociaciones más frecuentes son Fosfomicina-meropenem con colistina o tigeciclina, o con un aminoglucósido, aunque también puede ser piperacilina-tazobactam"

Microorganismos productores de carbapenemasas: infecciones graves *

Microorganismos (No.)	Sensibilidad (%)	País	Año de publicación
<i>K. pneumoniae</i> -CARBA (97)	90,5	Grecia	2010
<i>K. pneumoniae</i> -KPC (68) (23 tigeciclina y/o colistina R)	92,6	EE.UU.	2010
<i>K. pneumoniae</i> -KPC (65)	96,9	Grecia	2012
<i>P. aeruginosa</i> -MR (15)	93,3		
<i>K. pneumoniae</i> -KPC-2 (311)	99	Brasil	2013
<i>K. pneumoniae</i> -KPC-2 (41)	100	Grecia	2014
<i>P. aeruginosa</i> -VIM-2 (17)	100		

* Tratamiento combinado: fosfomicina (CMI $\leq 32 \mu\text{g/ml}$) + **doble o triple combinación:** meropenem-colistina-tigeciclina-amicacina (gentamicina)-piperacilina/tazobactam

30 Sinergia *in vitro* (curvas de muerte) Meropenem + Fosfomicina: 65% (*K. pneumoniae*-KPC-2). Souli M et al. 2011
Sinergia *in vitro* (tablero de ajedrez) Plazomicina + Fosfomicina: 3/4 (*K. pneumoniae*-KPC o VIM). R. Avial I et al. 2015

Falagas M E et al. Int J Antimicrob Agents. 2010; 35: 240-3
Endimiani A et al. Antimicrob Agents Chemother. 2010; 54: 526-9
Samonis G et al. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012; 31:695-701
Tsuai F F et al. J Infect. 2013; 67: 247-9
Pontius K. et al. Int J Antimicrob Agents. 2014; 43: 52-9

Conocidos ya los porcentajes de sensibilidad, la Dra. Morosini recordó que cuando se trate de microorganismos productores de carbapenemasas causantes de infecciones graves, se requerirá siempre que la sensibilidad *in vitro* esté confirmada.

En cuanto a las asociaciones, recordó que para el tratamiento de las infecciones causadas por microorganismos productores de carbapenemasas, "es imperativo asociar la Fosfomicina con otros compuestos, asociaciones que podrán ser dobles o triples, e incluirán meropenem, siempre y cuando la CMI sea $\leq 8 \mu\text{g/ml}$ ". Y continuó: "Las asociaciones más frecuentes que pueden incluir Fosfomicina son meropenem con colistina o tigeciclina, o con un aminoglucósido, que en la mayoría de los casos es amicacina, aunque también puede ser con piperacilina-tazobactam."

La doctora terminó este apartado refiriéndose al trabajo de la Dra. Rodríguez Avial y colaboradores (29), quienes, si bien estudiaron solamente cuatro cepas productoras de KPC, con la asociación de Fosfomicina y el nuevo aminoglucósido plazomicina, en tres de ellas "se obtiene sinergia y efecto bactericida."

¿QUÉ TRANSCENDENCIA CLÍNICA TIENE LA APARICIÓN DE MUTANTES DE RESISTENCIA *IN VITRO*?

La Dra. Morosini siguió con su ponencia refiriéndose a un trabajo del Dr. Andersson (30) para explicar la transcendencia clínica de la aparición de mutantes de resistencia *in vitro* y la perma-

Andersson indica que la tasa de mutación no es la principal causa para que un mutante resistente se quede fijado en una población bacteriana

La tasa de mutación hacia la resistencia no es un parámetro del todo adecuado para asumir que habrá un fracaso terapéutico

nente dualidad entre lo que ocurre *in vivo* con lo que ocurre *in vitro*.

Según sus explicaciones, en este trabajo queda muy bien explicado que “realmente la traducción *in vitro-in vivo* no es tanto como habíamos pensado”, al menos en la infección urinaria no complicada, que es a lo que se refiere el estudio del Dr. Andersson. En primer lugar, afirmó que era importante dejar de lado todo lo que se refiere a la adquisición horizontal de genes de resistencia y quiso centrarse en el desarrollo de resistencia por mutación. “Debemos partir de la base que lo deseable es que una población bacteriana frente a un antibiótico tenga una baja tasa de mutación hacia la resistencia.” A partir de esta reflexión, y siguiendo con el estudio del Dr. Andersson, explicó que se observa que no hay aparentemente una correlación en lo siguiente.

La tasa media esperable de mutación *in vitro* de Fosfomicina para *E. coli* oscila entre 10^{-7} y 10^{-6} . ¿Por qué no se traduce en un rápido desarrollo en vivo? La doctora respondió: “Hemos visto que los porcentajes de sensibilidad a Fosfomicina en los aislados clínicos, incluso los multirresistentes, se siguen manteniendo. Por lo tanto, este autor [Andersson] indica que la tasa de mutación *per se* no es la principal causa para que un mutante resistente se quede fijado como tal en una población bacteriana”.

Otro concepto a tener en cuenta es el tamaño del inóculo: “Es esperable que esa resistencia aparezca cuando se ha instaurado el tratamiento antibiótico”, añadió. Y continuó con la explicación del estudio y, en concreto, ya centrándose en la infección no complicada del tracto urinario.

La infección urinaria concursa con un inóculo que oscila entre 10^4 y 10^8 UFC/ml. La capacidad de la vejiga de un adulto es de 300 ml, por lo tanto nos moveríamos en un rango de población bacteriana entre 10^6 y 10^{10} UFC/ml. “Asumiendo que la tasa de mutación es 10^{-6} células por generación, el inóculo ya alberga mutantes resistentes preformados. A priori tendríamos que pensar que va a haber un fracaso del tratamiento”, sentenció.

Sin embargo, según continuó la Dra. Morosini, el desarrollo de resistencia en estos tratamientos es infrecuente. ¿Qué ocurre con la subpoblación resistente? Según su explicación, “la subpoblación resistente tiene una pérdida de adaptabilidad o de *fitness*. Los mutantes son eliminados por el hecho de la propia micción, sin olvidar la contribución del sistema inmunitario” (31).

Y llegó a la conclusión: “Esto demuestra que la tasa de mutación hacia la resistencia no es un parámetro del todo adecuado para asumir que habrá un fracaso terapéutico. Tanto el *fitness* o la adaptabilidad de esos mutantes, como el tamaño de la población

Fosfomicina no ha muerto nunca

y la dinámica de la propia infección tendrán más peso a la hora de traducir lo que ocurre *in vitro* a lo que ocurre *in vivo*."

Es evidente que en otro tipo de infecciones más complejas, en una sepsis o en una neumonía por ejemplo, esto no necesariamente va a ser así. Como apunta Andersson, la propia localización tiene una dinámica diferente y no necesariamente las bacterias van a ser "expulsadas" desde el principio. "Los mutantes resistentes podrán quedar fijados y en ese caso la aparición de resistencia clínica será un hecho. En tal caso, se podrá asociar Fosfomicina a otros compuestos y aumentar la dosis de la propia Fosfomicina, así como los intervalos de dosificación", añadió la Dra. Morosini.

ALGUNAS CONSIDERACIONES (diapositiva 20)

Hay numerosa bibliografía que habla del renacimiento de los antiguos compuestos, entre ellos Fosfomicina, que no escapa de estas revisiones, "por suerte", como añadió Morosini. "Es evidente que se necesita una profunda investigación de todos los aspectos, *in vitro* e *in vivo*. Lo podemos hacer desde el laboratorio, con un resultado *in vitro* fiable, tanto a favor como cuando no lo es, sus propiedades farmacológicas y su utilidad clínica."

Sobre este *revival* añadió: "Me he permitido agregar un concepto. No se renace si no se muere. Fosfomicina no ha muerto nunca. Así, cambiaría la palabra *revival* o renacimiento por revalorización del compuesto".

Diapositiva 20

Consideraciones sobre los estudios de sensibilidad *in vitro*

Revalorizar*

1. Devolver a algo el valor o estimación que había perdido.
2. Aumentar el valor de algo.

Real Academia Española © Todos los derechos reservados

El "renacimiento" (revival) de fosfomicina requiere una profunda revisión y actualización de sus propiedades antimicrobianas y de su utilidad clínica

In vitro

- Microorganismos: la presencia de uno o dos transportadores varía según los géneros bacterianos (*P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, sólo GlpT)
- Medios para determinación de sensibilidad: la presencia de un solo transportador (GlpT) no requiere añadir G6P. Consenso: Mueller Hinton, pH: 7.2-7.4 [más activa a pH ácido (máx. 5,5)]
- Métodos: EUCAST y CLSI: sólo dilución en agar ➡ ¿Sistemas automáticos?

Dilución en agar vs. microdilución

- ✓ *E. coli*: AE: 98,6% ✦ *K. pneumoniae*: AE: 72,5%
- ✦ *P. aeruginosa*, AE: 84%, AC: 89,3%

✦ Discos y tiras de gradiente: mala correlación

de Cueto M et al. Antimicrob Agents Chemother. 2006; 50: 368-70
López-Cerero L et al. J Antimicrob Chemother. 2007; 59: 810-11
Díez-Aguilar Met al. Antimicrob Agents Chemother. 2013; 57: 5701-3

Se ha revalorizado
el compuesto

¿QUÉ VEMOS *IN VITRO*?

Hay microorganismos que solo tienen un transportador o permeasa. Los transportadores son inducibles por los propios sustratos, que permiten entrar a la bacteria. “No necesitamos agregar glucosa-6-fosfato cuando determinamos la CMI a Fosfomicina en el caso de *Pseudomonas aeruginosa* o *Proteus mirabilis*, en las que solo existe un transportador que es el del glicerol-3-fosfato”, dijo. Según la Dra. Morosini, “en todas las pruebas, tanto en caldo como agar, nos exigen, y siempre lo hacemos, un pH cercano a la neutralidad, pero sabemos que Fosfomicina es más activa a pH ácido. Probablemente utilizando un modelo *in vitro* de pH alcalinos estamos infiriendo unos porcentajes de resistencia mayores a los que serían en los sitios de acción si las infecciones trascurriesen en sitios en los que el pH es ácido.”

Y continuó: “Con respecto a EUCAST y CLSI nos dicen que solo debemos emplear el método de dilución en agar, que no está validado en la microdilución. Seguramente el 99% de los que estamos aquí utilizamos medios automáticos para detectar la CMI; por lo tanto, a lo mejor habrá que dejar de lado este paradigma estudiando las correlaciones entre ambos métodos.”

Y en esta ocasión, se refirió a un artículo de la Dra. de Cueto (18) del año 2006, que “encontró un acuerdo esencial elevado entre ambos métodos para *E. coli*, siendo inferior para *Klebsiella pneumoniae* (no llega al 80%). Posteriormente, la Dra. López Cerero (32) observó que para *Klebsiella pneumoniae* la correlación entre las determinaciones en agar, los discos y las tiras de CMI era muy baja, pero aun así, seguimos utilizando a veces discos y tiras de gradiente. Lo mismo ha encontrado la Dra. María Díaz Aguilar (33), que trabaja con *Pseudomonas aeruginosa* y Fosfomicina, y que ha encontrado un acuerdo esencial entre la microdilución y la dilución en agar del 84% y un acuerdo de categorías del 90%. Ella también encontró que para los discos y las tiras de gradiente la correlación no es adecuada.”

Para finalizar, la Dra. Morosini quiso volver al inicio de la conferencia, al artículo de Science de 1969, para remarcar que Fosfomicina lleva más de 40 años en el mercado y que por lo tanto “el *revival* consiste más en una revalorización del compuesto, tanto *in vitro* como *in vivo*. “Creo que con las cifras que les he mostrado y pensando que hay conceptos que sin duda merecen ser analizados nuevamente, Fosfomicina no tiene que revivir sino volver a ocupar el sitio que no perdió nunca.”

Hay numerosa bibliografía que habla del renacimiento de los antiguos compuestos, entre ellos Fosfomicina, que no escapa de estas revisiones, “por suerte”, como añadió la Dra. Morosini. “Es

Diapositiva 22

Doc J Clin Microbiol Infect Dis (2015) 70:127–142
DOI 10.1093/cid/civ012

REVIEW

Fosfomycin: an old, new friend?

M. Popovic · D. Seimant · S. Pillai · C. Jochheim

Curr Opin Infect Dis (2015) December ; 2(6): 626–633. doi: 10.1093/CID/civ012

'Old' antibiotics for emerging multidrug-resistant bacteria

Philip J. Bergen^{1,2}, Cornelia B. Landersdorfer^{1,2}, Hae J. Lee³, Jan L^{1,4}, and Roger L. Nation^{1,2}

Microbiology in
MICROBIOLOGY

REVIEW ARTICLE
published November 2015
doi:10.1093/cid/civ012

A new strategy to fight antimicrobial resistance: the revival of old antibiotics

Nadine Casati^{1,2*}, Jean-Marc Robic³ and Philippe Brouqui^{1,2*}

**Journal of
Antimicrobial
Chemotherapy**

J Antimicrob Chemother 2011; **70**: 2177–2181
doi:10.1093/jac/dkq184 Advance Access publication 10 June 2011

Reviving old antibiotics

Ursula Theuretzbacher¹*, Françoise Van Bommel², Rethel Conton³, Christian G. Giske^{4,5}, Johan W. Mouton^{4,5}, Roger L. Nation⁶, Mical Paul⁷, John D. Turnidge¹⁰ and Gunnar Kahlmeter^{11,12}

J Antimicrob Chemother 22 (2011), 2177–2181

Content not available at ScienceDirect

Journal of Infection and Chemotherapy

Journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/jic>

 **ELSEVIER**

Original article

***In vitro* activity of potential old and new drugs against multidrug-resistant gram-negatives**

Camila Rizek ^a, Juliana Rosa Feitraz ^a, Inneke Marie van der Heijden ^a, Mauro Giudice ^a, Anna Karina Mostachio ^a, Jorge Paez ^a, Claudia Carnilho ^b, Anna Sara Levin ^a, Silvia F. Costa ^{a,c}

1. Hendlin D, Stapley E. O, Jackson M, Wallick H, Miller A.K, Wolf FJ, et al. Phosphonomycin, a new antibiotic produced by strains of *Streptomyces*. Science. 1969; 166:123-4.
2. Stapley EO, Hendlin D, Mata JM, Jackson M, Wallick H, Hernández S et al. Phosphonomycin. I. Discovery and in vitro biological characterization. Antimicrob Agents Chemother (Bethesda). 1969; 9:284-90.
3. Woodruff HB, Mata JM, Hernández S, Mochales S, Rodríguez A, Stapley EO et al. Fosfomicin: Laboratory studies. Chemotherapy. 1977;23 Suppl 1:1-22.
4. Castañeda-García A, Blázquez J, Rodríguez-Rojas A. Molecular mechanisms and clinical impact of acquired and intrinsic fosfomicin resistance. Antibiotics 2013; 2:217-36.
5. Michalopoulos AS, Livaditis IC, Gougoutas V. The revival of fosfomicin. Int J Infect Dis. 2011;15:e732-9. doi: 10.1016/j.ijid.2011.07.007.
6. Karageorgopoulos DE, Wang R, Yu XH, Falagas ME. Fosfomicin: evaluation of the published evidence on the emergence of antimicrobial resistance in Gram-negative pathogens. J Antimicrob Chemother. 2012;67:255-68.
7. Gardiner BJ, Mahony AA, Ellis AG, Lawrentschuk N, Bolton DM, Zeglinski PT et al. Is fosfomicin a potential treatment alternative for multidrug-resistant gram-negative prostatitis? Clin Infect Dis. 2014; 58: e101-5. doi: 10.1093/cid/cit704.
8. Gobernado M. Fosfomicina. Rev Esp Quimioterap. 2003; 16:15-40.
9. Lu CL, Liu CY, Huang YT, Liao CH, Teng LJ, Turnidge JD et al. Antimicrobial susceptibilities of commonly encountered bacterial isolates to fosfomicin determined by agar dilution and disk diffusion methods. Antimicrob Agents Chemother. 2011; 55:4295-301.
10. Giske CG. Contemporary resistance trends and mechanisms for the old antibiotics colistin, temocillin, fosfomicin, mecillinam and nitrofurantoin. Clin Microbiol Infect. 2015; 21:899-905.
11. Felten A, Desplaces N, Nizard R, Sedel L, Lagrange P. Peptostreptococcus magnus osteoarticular infections after orthopedic surgery. 14 cases and pathogenicity factors]. Pathol Biol (Paris). 1998; 46:442-8.
12. Eschenburg S, Priestman M, Schönbrunn E. Evidence that the fosfomicin target Cys115 in UDP-N-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase (MurA) is essential for product release. J Biol Chem. 2005; 280:3757-63.
13. Takahata S, Ida T, Hiraishi T, Sakakibara S, Maebashi K, Terada S. Molecular mechanisms of fosfomicin resistance in clinical isolates of *Escherichia coli*. Int J Antimicrob Agents. 2010; 35:333-7.
14. Beharry Z, Palzkill T. Functional analysis of active site residues of the fosfomicin resistance enzyme FosA from *Pseudomonas aeruginosa*. J Biol Chem. 2005; 280:17786-91.
15. Kitanaka H, Wachino J-I, Jin W, Yokoyama S, Sasano M-A, Mitsuhiro Hori M, et al. Novel integron-mediated fosfomicin resistance gene fosK. Antimicrob Agents Chemother. 2014; 58: 4978-9.
16. Li Y, Zheng B, Li Y, Zhu S, Xue F, Liu J. Antimicrobial Susceptibility and Molecular Mechanisms of Fosfomicin Resistance in Clinical *Escherichia coli* Isolates in Mainland China. Plos One. 2015; 2:217-36.
17. Ma Y, Xu X, Guo Q, Wang P, Wang W, Wang M. Characterization of fosA5, a new plasmid-mediated fosfomicin resistance gene in *Escherichia coli*. Lett Appl Microbiol. 2015; 60:259-64.
18. de Cueto M, Hernández JR, López-Cerero L, Morillo C, Pascual A. Activity of fosfomicin against extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2006;24(10):613-6.
19. Falagas ME, Kastoris AC, Kapaskelis AM, Karageorgopoulos DE. Fosfomicin for the treatment of multidrug-resistant, including extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae infections: a systematic review. Lancet Infect Dis. 2010; 10:43-50.
20. Meier S, Weber R, Zbinden R, Ruef C, Hasse B. Extended-spectrum β -lactamase-producing Gram-negative pathogens in community-acquired urinary tract infections: an increasing challenge for antimicrobial therapy. Infection. 2011; 39:333-40.
21. Villar HE, Jugo MB, Macan A, Visser M, Hidalgo M, Maccallini CC. Frequency and antibiotic susceptibility patterns of urinary pathogens in male outpatients in Argentina. J Infect Dev Ctries. 2014; 8:699-704.
22. Zykov IN, Sundsfjord A, Småbrekke L, Samuelsen Ø. 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; 48:99-107.
23. Cho YH, Jung SI, Chung HS, Yu HS, Hwang EC, Kim SO et al. Antimicrobial susceptibilities of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in health care-associated urinary tract infection: focus on susceptibility to fosfomicin. Int Urol Nephrol. 2015; 47:1059-66.
24. Falagas ME, Maraki S, Karageorgopoulos D. E, Kastoris A.C, Mavromanolakis E, Samonis G. Antimicrobial susceptibility of multidrug-resistant (MDR) and extensively drug-resistant (XDR) Enterobacteriaceae isolates to fosfomicin. Int J Antimicrob Agents. 2010; 35:240-3.
25. Endimiani A, Patel G, Hujer K. M, Swaminathan M, Pérez F, Rice LB et al. In Vitro Activity of Fosfomicin against blaKPC-Containing *Klebsiella pneumoniae* Isolates, Including Those Nonsusceptible to Tigecycline and/or Colistin. Antimicrob Agents Chemother. 2010; 54:526-9.
26. Samonis G, Maraki S, Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Falagas ME. Synergy of fosfomicin with carbapenems, colistin, netilmicin, and tigecycline against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* clinical Isolates. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012; 31:695-701.
27. Tuon FF, Rocha JL, Formighieri MS, Sfair S, Bertoldi MB, Palmeiro JK et al. Fosfomicin susceptibility of isolates with blaKPC-2 from Brazil. J Infect. 2013; 67:247-9.
28. Pontikis K, Karaïskos I, Bastani S, Dimopoulos G, Kalogirou M, Katsiari M et al. Outcomes of critically ill intensive care unit patients treated with fosfomicin for infections due to pandrug-resistant and extensively drug-resistant carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. Int J Antimicrob Agents. 2014; 43:52-9.
29. Rodríguez-Avil I, Pena I, Picazo JJ, Rodríguez-Avil C, Culebras E. In vitro activity of the next-generation aminoglycoside plazomicin alone and in combination with colistin, meropenem, fosfomicin or tigecycline against carbapenemase-producing Enterobacteriaceae strains. Int J Antimicrob Agents. 2015 Sep. pii: S0924-8579(15)00295-2. doi: 10.1016/j.ijantimicag. 2015.07.021.
30. Andersson DI. Improving predictions of the risk of resistance development against new and old antibiotics. Clin Microbiol Infect. 2015;21:894-8.
31. Nilsson AI, Berg OG, Aspevall O, Kahlmeter G, Andersson DI. Biological costs and mechanisms of fosfomicin resistance in *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother. 2003; 47: 2850-8.
32. López-Cerero L, de Cueto M, Díaz-Guerrero MA, Morillo C, Pascual A. Evaluation of the Etest method for fosfomicin susceptibility of ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae*. J Antimicrob Chemother. 2007; 59:810-2.
33. Díez-Aguilar M, Morosini MI, del Campo R, García-Castillo M, Zamora J, Cantón R. In vitro activity of fosfomicin against a collection of clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates from 16 Spanish hospitals: establishing the validity of standard broth microdilution as susceptibility testing method. Antimicrob Agents Chemother. 2013; 57:5701-3.