



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

---

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD HOSPITAL GENERAL DR.  
GAUDENCIO GONZALEZ GARZA CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA"

**ESTUDIO DE SENSIBILIDAD A FOSFOMICINA EN MICROORGANISMOS  
MULTIDROGO-RESISTENTES Y ENTEROBACTERIAS AISLADAS DE  
MUESTRAS CLINICAS DE LA SECCIÓN DE MICROBIOLOGÍA EN EL  
LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL GAUDENCIO GONZALEZ GARZA  
CMN LA RAZA.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
MÉDICO ESPECIALISTA EN PATOLOGÍA CLÍNICA**

**PRESENTA**

DR. OSCAR ZAMUDIO CHÁVEZ

**INVESTIGADOR RESPONSABLE**

Q.F.B MA. DEL SOCORRO MENDEZ TOVAR

CIUDAD DE MÉXICO A JULIO DE 2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

TITULO: ESTUDIO DE SENSIBILIDAD A FOSFOMICINA EN MICROORGANISMOS MULTIDROGO-RESISTENTES Y ENTEROBACTERIAS AISLADAS DE MUESTRAS CLINICAS DE LA SECCIÓN DE MICROBIOLOGIA EN EL LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL GAUDENCIO GONZALEZ GARZA CMN LA RAZA.

HOJA DE FIRMAS



---

Dra. María Teresa Ramos Cervantes  
Encargada de Educación e Investigación en Salud

Del Hospital General Dr. Gaudencio González Garza U. M. A. E. "La Raza"

---



Dr. Antonio Quintero Bazaldua

Profesor titular del Curso de Especialización

En Patología Clínica Del Hospital General Gaudencio González Garza U.M.A.E.  
"La Raza"



---

Q.F.B. María del Socorro Méndez Tovar

Química jefe de sección de Microbiología

Del Hospital General Gaudencio González Garza U.M.A.E. "La Raza"



---

Dr. Oscar Zamudio Chávez

Médico Residente del Tercer Año de la Especialidad

En Patología Clínica Del Hospital General Gaudencio González Garza U.M.A.E.  
"La Raza"

Investigador responsable:

Dr. Oscar Zamudio Chávez. Médico Residente de 3° año de la Especialidad en Patología Clínica U.M.A.E Hospital General Dr. Gaudencio González Garza” “La Raza” IMSS. Calzada Vallejo s/n, Esquina Av. Jacarandas, Col. La raza, Del. Azcapotzalco, CP. 02990 Ciudad de México, Matrícula IMSS: 97360075.

Cedula profesional: 9740404. Teléfono: 55-54-04-05-79. Correo electrónico: [drzamudio.oscar@gmail.com](mailto:drzamudio.oscar@gmail.com)

Investigador principal:

Q.F.B. Ma. Del Socorro Méndez Tovar. Química Jefe De Sección de Microbiología U.M.A.E. Hospital General Dr. Gaudencio González Garza” “La Raza” IMSS. Calzada Vallejo s/n, Esquina Av. Jacarandas, Col. La Raza, Del. Azcapotzalco, CP. 02990 Ciudad de México, Matrícula IMSS: 8978581. Teléfono: 57-24-59-00 EXT 23453. Correo electrónico: [maria.mendezt@imss.gob.mx](mailto:maria.mendezt@imss.gob.mx)

## AGRADECIMIENTOS

*“EL PRECIO DE LA EXCELENCIA ES LA DISCIPLINA. EL COSTO DE LA MEDIOCRIDAD ES LA DECEPCIÓN.”*

WILLIAM ARTHUR WARD

**A MIS PADRES:** “AFRONTO LA VIDA CON ALEGRÍA PORQUE TENGO EL AMOR DE DOS SERES QUE CONFÍAN EN MÍ Y APOYAN MIS DECISIONES, USTEDES ME INSPIRAN, ALIENTAN A SER MEJOR PARA AFRONTAR LOS PROBLEMAS CON OPTIMISMO, Y VER DE LA MEJOR MANERA LO BELLO QUE ES LA VIDA. GRACIAS QUERIDOS PADRES”.

**A MI HERMANA:** LIC. GLADIS ZAMUDIO CHAVEZ, AMIGA, HERMANA Y CONFIDENTE, POR EL AMOR, APOYO Y RESPALDO QUE ME HA BRINDADO DURANTE TODOS ESTOS AÑOS.

**A MI SOBRINA:** VANESSA DIAZ ZAMUDIO, POR SER UNA MOTIVACION EN MI DIA A DIA DESDE AQUEL HERMOSO MOMENTO QUE LLEGASTE A NUESTRAS VIDAS LLENANDOLAS DE AMOR, LUZ E ILUSIONES.

**A MIS AMIGOS:** DR. LEOPOLDO MENDOZA AMIGO DE ENTRAÑABLES MOMENTOS, DRA. ANA LOZANO POR TANTAS LOCURAS COMPARTIDAS, DRA. WENDOLIN CUBIAS POR ESE AMOR, CARIÑO Y APOYO INCONDICIONAL. DRA BRENDA ACEVEDO PORQUE ESTA ETAPA LLAMADA RESIDENCIA NO HUBIESE SIDO LO MISMO SIN TI. GRACIAS POR TODO QUERIDOS AMIGOS.

**A MIS PROFESORES TITULARES:** DRA. RITA CONCEPCIÓN GUTIERREZ HERNÁNDEZ POR ENSEÑARME QUE EL ÉXITO NO CAE DEL CIELO, SE TRATA DE CONSTANCIA, DISCIPLINA Y ENTREGA. DRA. ANTONIO QUINTERO BAZALDUA GRACIAS POR LA VOCACIÓN Y DEDICACIÓN QUE REPRESENTA EL SER LIDER, UN GRAN SER HUMANO Y PROFESIONAL, QUE ME APOYO INCONDICIONALMENTE EN TODO MOMENTO. GRACIAS.

**A Q.F.B. MARIA DEL SOCORRO MENDEZ TOVAR:** NO HAY PALABRAS PARA AGRADECER SU DEDICACION, PACIENCIA Y ENTREGA EN MI DESARROLLO PROFESIONAL, USTED LA PERSONA QUE CONFIO EN MI DESDE EL PRIMER MOMENTO. INFINITAS GRACIAS.

# CONTENIDO

ABREVIATURAS.....	6
RESUMEN .....	7
ANTECEDENTES .....	9
JUSTIFICACION .....	13
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	14
OBJETIVO GENERAL.....	14
HIPÓTESIS.....	14
PACIENTES Y MÉTODOS .....	15
Diseño del estudio.....	15
Ubicación temporal y espacial .....	15
Selección de la muestra .....	15
Tamaño.....	15
Grupo de estudio.....	16
Criterios de selección de la muestra .....	16
Criterios de inclusión.....	16
Criterios de no inclusión.....	16
Criterio de exclusión.....	16
Descripción de variables .....	17
Independientes .....	17
Dependientes .....	17
Descripción operacional de las variables .....	17
Tamaño de la muestra .....	18
Procedimiento.....	18
ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	21
CONSIDERACIONES ÉTICAS .....	21
RESULTADOS .....	22
DISCUSIÓN.....	26
LIMITACIONES .....	28
CONCLUSIONES .....	29
BIBLIOGRAFÍA.....	30

## ABREVIATURAS

BLEE	Betalactamasas de espectro extendido
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>K. oxytoca</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
<i>E. cloacae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>P. vulgaris</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>A. baumannii</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>E. aerogenes</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
<i>P. mirabilis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>S. maltophilia</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>S. marcescens</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>C. koseri</i>	<i>Citrobacter koseri</i>
<i>B. cepacia</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
CLSI	Instituto de estándares de laboratorio clínico
EUCAST	Comité Europeo de Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
MDR	Multidrogo resistente
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser <u>Desorption</u> /Ionization
IDSA	Infectious Diseases Society of America
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a Meticilina
MIC	Concentración mínima inhibitoria
OPS	Organización Panamericana de la Salud
OMS	Organización Mundial de la Salud

## RESUMEN

**Antecedentes:** El aumento constante de la resistencia microbiana, hoy en día es un problema a nivel mundial y ha llevado a muchos países a elaborar planes nacionales de control y a investigadores a diseñar nuevas estrategias terapéuticas para las infecciones.

**Material y métodos:** se realizó un estudio descriptivo analítico observacional. Se recolectaron 250 cepas especialmente de la familia *Enterobacteriaceae* y otras multidrogo-resistentes aisladas muestras clínicas de pacientes hospitalizados y terapia ambulatoria, identificadas por sistema automatizado MALDI-TOF (bioMérieux) y VITEK 2XL; sometiéndose a un reto de sensibilidad contra Fosfomicina por el método de Kirby Bauer.

**Resultados:** Se analizaron las siguientes muestras: urocultivo 175, secreción bronquial 27, hemocultivo 11, herida quirúrgica 7, líquido peritoneal 6, líquido biliar 1, expectoración 14, biopsia de piel 5, punta de catéter 3, y exudado nasal 1. Los patógenos más frecuentemente aislados fue *E. coli* 147, *P. aeruginosa* 32, *K. pneumoniae* 25, *K. oxytoca* 7, *E. cloacae* 7, entre otras.

Sé encontró que un 34% de los microorganismos BLEEs, fueron resistentes a Ampicilina 73.60%, Trimetoprim–Sulfametoxazol 63.20%, Cefazolina 60.00%, Ceftriaxona 57.20%, Ampicilina Sulbactam 52.40%, Ciproflouxacino 51.60%, Cefepime 48.00 %. Aztreonam 41.20%. El reto a Fosfomicina mostró 224 cepas sensibles (89.6%) y 26 cepas resistentes (10.4%).



## **Discusión y Conclusión**

Nuestro estudio demuestra que Fosfomicina mantiene su actividad in vitro frente a cepas productoras de diferentes familias y tipos BLEE; de momento, no existe resistencia cruzada con otros grupos de antimicrobianos, lo que convierte a Fosfomicina en una buena alternativa para el tratamiento infecciones causadas por estos patógenos multi-resistentes.

Los datos de susceptibilidad procedentes de los Estados Unidos de América sobre este antibiótico son limitados, creemos que los datos obtenidos en este estudio respaldan las directrices actuales de la IDSA que recomiendan el uso de Fosfomicina. Los futuros programas de vigilancia proporcionan información valiosa en relación con el estado actual de la resistencia a los antimicrobianos y puede conducir a una prescripción más adecuada.

Los microorganismos multidrogo-resistentes así como de la familia de las Enterobacterias demostraron una sensibilidad ante Fosfomicina, y con base a los resultados obtenidos se puede considerar a este antibiótico como una opción terapéutica ante enfermedades de etiología infecciosa.

**Palabras clave:** sensibilidad, resistencia, Fosfomicina, enterobacterias, infecciones del tracto urinario.

## ANTECEDENTES

El aumento continuo de la resistencia antimicrobiana, hoy en día es un problema de salud pública a nivel mundial, que ha llevado a muchos países a elaborar planes nacionales de control y vigilancia epidemiológica ante la tendencia al alza de los microorganismos multidrogo-resistentes (MDR), a los diferentes antibióticos que son utilizados en terapias empíricas y de primera línea, por lo que investigadores diseñan nuevas estrategias para el tratamiento de las infecciones a partir del resurgimiento de antimicrobianos utilizados en el pasado como Colistin y Fosfomicina.<sup>1,2</sup> En sus inicios este último fue llamado *Fosfomicina*, identificado en España en 1969 como un derivado del ácido fosfónico a partir de cultivos de *Streptomyces fradiae*, *Streptomyces viridochromogenes*, y *Streptomyces wedmorensis*.<sup>3,4</sup> Debido a sus características químicas propias no guarda relación con ningún otro tipo de agente antimicrobiano. Su mecanismo de acción es mediante la inactivación de la N-acetilglucosamina enolpiruvil transferasa citosólica (MurA), evitando así la formación de ácido N-acetilmurámico a partir de N-acetilglucosamina y fosfoenolpiruvato, que es el paso inicial en la formación de la cadena de peptidoglicano en la pared bacteriana.<sup>5</sup> Mediante un sistema de transporte de glicerol-3-fosfato (GlpT) puede ingresar a las bacterias susceptibles, así como también por un mecanismo de absorción de fosfato de hexosa (UhpT) inducido en presencia de glucosa-6-fosfato, proporcionando una alternativa al sistema GlpT para su entrada en las células. Un defecto en cualquiera de estos 2 mecanismos condiciona resistencia a este antibiótico. Se considera un agente

antimicrobiano de amplio espectro, por tener una excelente actividad bactericida frente a grampositivos y gramnegativos.<sup>6,7,8</sup>

Este antibiótico se encuentran disponible, como sales de Fosfomicina para administración oral: Fosfomicina trometamina y Fosfomicina cálcica. Ambas sales se absorben rápidamente después de la administración oral, pero la biodisponibilidad es significativamente mejor para la Fosfomicina trometamina (40%) que la Fosfomicina cálcica (12%) ya que esta última es inactivada por la hidrólisis en un medio ácido, como es el jugo gástrico. La principal contra indicación para su uso es la hipersensibilidad a cualquiera de sus componentes de su formulación.

Se ha utilizado principalmente en el tratamiento de la infecciones del tracto urinario (UTI) desde el año 1988, así mismo en infecciones de repetición. Debido a los niveles extremadamente bajos de resistencia estudiados en microorganismo como *E. coli*, su utilización se ha extendido en casi todo el mundo.<sup>9, 10, 11</sup> Este último es el patógeno prototipo perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae* y representa la mayor problemática en resistencia terapéutica. Anteriormente los agentes antimicrobianos solían ser activos contra esta familia, incluyendo combinaciones de inhibidores de B-lactamasa, Cefalosporinas, Carbapenemicos, Sulfonamidas, Fluoroquinolonas y Aminoglucósidos. Sin embargo, la resistencia ha empeorado sustancialmente en la última década.

Fosfomicina tiene una excelente actividad contra *Escherichia coli*, así como una buena actividad in vitro contra *K. pneumoniae* con tasas de susceptibilidad entre 70 y 85% y ligeramente mayores contra *Proteus mirabilis* 80-97%.<sup>12</sup> Es importante destacar que la Fosfomicina tiene una excelente actividad contra

*Enterobacteriaceae* productoras de B-lactamasa de espectro extendido (BLEE), contra *S. aureus* resistente a Meticilina (MRSA) en una concentración mínima inhibitoria (MIC) de aproximadamente 1 mg / ml, pero puede haber un subgrupo de cepas altamente resistentes entre el MRSA. También es activo contra la mayoría de *Staphylococcus spp.* Coagulasa-negativos.<sup>12, 13,14</sup>

Para el laboratorio de Patología clínica y en especial para la sección de Microbiología médica es de vital importancia contar con diferentes métodos y técnicas analíticas para determinar la resistencia y sensibilidad de los antibióticos a las diferentes familias bacterianas; el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) recomienda utilizar la dilución en agar o el método de difusión en disco para la sensibilidad a Fosfomicina en aislamientos de *E. coli* y *E. faecalis* utilizando el método de Kirby Bauer. El punto de corte actual para identificar cepas sensibles a Fosfomicina es con una concentración mínima inhibitoria (MIC)  $\leq 64 \mu\text{g} / \text{ml}$  y  $\geq 16 \text{ mm}$  para difusión en disco. Sin embargo el Comité Europeo de Pruebas de Susceptibilidad a los Antimicrobianos (EUCAST) define el punto de corte de  $\leq 32 \mu\text{g} / \text{ml}$  para la familia *Enterobacteriaceae* y para los *Staphylococcus spp.*<sup>15-18</sup> Para realizar una adecuada técnica analítica de sensibilidad y resistencia antimicrobiana se han utilizado tecnologías de apoyo como MALDI-TOF MS y VITEK 2XL, los cuales ha revolucionado la identificación correcta de especies bacterianas en los laboratorios microbiológicos como una herramienta innovadora, rápida, precisa, y un tanto económica que se ha integrado en el flujo de trabajo de los laboratorios reemplazando las técnicas bioquímicas o moleculares tradicionales.<sup>19,20</sup>

La salud pública en México se ha visto deteriorada con respecto a padecimientos infecciosos; la mortalidad se ha incrementado en servicios clínicos como terapia intensiva y otros de hospitalización continua debido a la presión positiva que ejercen los antimicrobianos en las bacterias, haciendo que estas últimas desarrollen mecanismos intrínsecos y extrínsecos para evitar el efecto bactericida o bacteriostático de los antibióticos.

## JUSTIFICACION

En la actualidad la tasa de resistencia a los antimicrobianos por parte de los microorganismos pertenecientes a la familia *Enterobacteracea* y otros multidrogo-resistentes, dificultan la evolución natural de la enfermedad y la resolución de la misma, por este motivo tanto la OMS y la OPS han hecho un llamado a nivel mundial para llevar a cabo un programa de control, e implementar estrategias que con lleven a la disminución de la resistencia microbiana, como la utilización correcta de los antibióticos y búsqueda de alternativas terapéuticas, por tal motivo se ha estudiado la sensibilidad con otros antibióticos que se habían dejado en desuso como la Fosfomicina y Colistina.

Estos antimicrobianos pueden ser una terapia alternativa en aquellos pacientes donde las terapias convencionales han dejado de tener efecto. Por lo que este estudio pretende otorgar una alternativa mediante el reto microbiano de Fosfomicina con cepas provenientes de pacientes que presenten infecciones con clonas multidrogo-resistentes.

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

1. ¿Las Enterobacterias y otros microorganismos multidrogo-resistentes son sensibles a Fosfomicina?

## **OBJETIVO GENERAL**

1. Determinar la sensibilidad a Fosfomicina de las enterobacterias y microorganismos multidrogo-resistentes aislados de diferentes muestras en el laboratorio de Microbiología.

## **HIPÓTESIS**

1. Las Enterobacterias y otros microorganismos multidrogo-resistentes a los antimicrobianos, presentan sensibilidad a Fosfomicina cuando se aíslan de muestras clínicas.

## **PACIENTES Y MÉTODOS**

### **Diseño del estudio**

Estudio, descriptivo, analítico, observacional que identificó si presentan sensibilidad las Enterobacterias y otros microorganismos multidrogo-resistentes al exponerse a discos de antibiótico con Fosfomicina en muestras clínicas del laboratorio de Microbiología de la U.M.A.E. Hospital General Dr. Gaudencio González Garza “La Raza” IMSS.

### **Ubicación temporal y espacial**

El estudio se llevó acabo del 1 de marzo del 2016 al 1 de marzo del 2017 en el laboratorio de Microbiología médica de la U.M.A.E. Hospital General Dr. Gaudencio González Garza “La Raza” IMSS.

### **Selección de la muestra**

#### **Tamaño**

Se incluyeron todas las muestras clínicas recibidas en el laboratorio de Microbiología de pacientes hospitalizados y de consulta externa que tuvieran un diagnóstico de etiología infecciosa y a su vez se tratara de microorganismos correspondientes a la familia de Enterobacterias y con resistencia a más de 3 antibióticos en su antibiograma.



## **Grupo de estudio**

Microorganismos de la familia *Enterobacteracea* y multidrogo-resistentes aislados de diferentes muestras clínicas del laboratorio de Microbiología.

## **Criterios de selección de la muestra**

### **Criterios de inclusión**

Muestras de pacientes hospitalizados y de terapia ambulatoria con microorganismos identificados por VITEK 2XL Biomeriux correspondientes a la familia *Enterobacteracea* y otros microorganismos resistentes, con una segunda identificación por MALDI-TOF MS Biomeriux y su correspondiente antibiograma a 3 o más familias de antibióticos.

### **Criterios de no inclusión**

Muestras clínicas en las cuales no hubo crecimiento bacteriano.

### **Criterio de exclusión**

Muestras clínicas que no se encuentren en condiciones óptimas. Muestras clínicas contaminadas. Muestras clínicas con crecimiento de más de un tipo de microorganismo de diferente familia, muestras clínicas con discrepancia de identificación por los métodos automatizados utilizados. Muestras clínicas en las que no se recupere al microorganismo en un segundo cultivo. Microorganismos no

pertenecientes a la familia *Enterobacteracea*. Microorganismos que no sean resistentes a más de 3 familias de antibióticos

### **Descripción de variables**

#### **Independientes**

- a. Uso de Fosfomicina. En una medición del halo de inhibición por difusión en disco determina la sensibilidad  $\geq 16$  mm de diámetro.

#### **Dependientes**

- a. Tiempo de incubación. Halos de inhibición que aumentaron su diámetro expresado en milímetros al incubar por más de 24 horas en medio de cultivo Muller-Hinton.

### **Descripción operacional de las variables**

- a. Uso de Fosfomicina. Uso de un antibiótico para determinar la sensibilidad en microorganismos correspondientes a la familia *Enterobacteriaceae* y otros identificados como multidrogo-resistentes que fue determinada por el halo de medición  $> 16$  mm. Evaluado en una escala cualitativa nominal: si, no.

## **Tamaño de la muestra**

Se incluyeron la mayor cantidad posible de muestras clínicas. Se esperaba recabar un mínimo de 250 muestras clínicas y así se obtuvo.

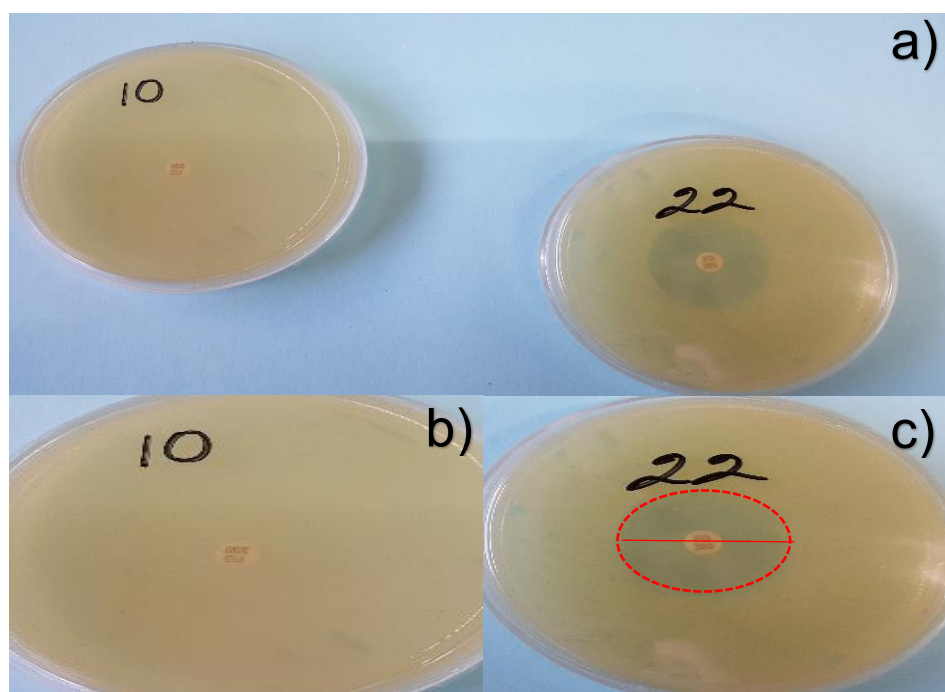
## **Procedimiento**

Durante el periodo antes mencionado se incluyeron todas las muestras clínicas que eran llevadas al laboratorio de Microbiología de los diferentes servicios de hospitalización y de terapia ambulatoria. Las muestras de los pacientes fueron identificadas y clasificadas por tipo de espécimen; se realizó el aislamiento y siembra en un medio de cultivo primario (agar gelosa sangre), se incubaron por 24 horas y posteriormente se realizó la identificación macroscópica y microscópica de las colonias; cada aislamiento fue llevado al sistema automatizado VITEK 2XL bioMérieux para determinar su sensibilidad a 17 diferentes antimicrobianos (Ampicilina, Ampicilina/Sulbactam, Piperacilina/Tazobactam Cefazolina, Ceftriaxona, Cefepime, Aztreonam, Ertapenem, Meropenem, Amikacina Gentamicina, Tobramicina, Ciprofloxacino, Tigeciclina, Nitrofurantoina y Trimetroprima/Sulfametoxazol) y mediante espectrometría de masa con el sistema automatizado MALDI-TOF MS (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization*) de bioMérieux se realizó la identificación.

Ya identificado el microorganismo y obtenido el antibiograma se realizó un segundo sembrado por estría masiva en el medio de cultivo en agar Mueller-Hinton utilizando la técnica de Kirby–Bauer (difusión en disco) en aquellos microorganismos de la

familia *Enterobacteracea* y otros que resultaron resistentes a más de 3 familias de antibióticos.

A una concentración de 0.5 del nefelómetro de Macfarland, se colocó un sensidisco de 50 mcg de Fosfomicina como se representa en la **figura 1**; se incubó a 35°C +/- 2°C. Posteriormente se midieron con una regla los halos de inhibición a las 24 horas de acuerdo a los lineamientos del (CLSI).<sup>19,20</sup> Por medio de bitácoras y del software Modulab™ con el que cuenta el laboratorio, se llevó un control sobre los resultados obtenidos de la identificación de los microorganismos por los sistemas automatizados, y en una hoja del software Excel Microsoft se almacenaron los datos de las mediciones en milímetros de los diámetros de inhibición.



**Figura 1.** Agar Muller-Hinton con disco de fosfomicina de 50 mg, **a)** se presenta el medio de cultivo de dos cepas bacterianas diferentes sembradas por estria masiva, **b)** se observa ausencia de halo de inhibición correspondiente a *P. aeruginosa*, menor de 16 mm secundario a resistencia bacteriana a fosfomicina, **c)** presencia de halo de inhibición representado por las líneas discontinuas; mayor de 16 mm representado por línea continua horizontal correspondiente a *E. coli BLEE* sensible a fosfomicina.

Como parte del control de calidad para la identificación correcta de los microorganismos se usaron cepas bacteriológicas de *E. coli* ATCC 25922 (BLEE negativa) y *K. pneumoniae* ATCC 700603 (BLEE positivo) además como control en las pruebas fenotípicas de producción de BLEE.

Posteriormente cada cepa identificada se almacenó en alícuotas en ultracongeladores a menos 18°C con la finalidad de disminuir volumen de placas de agarosa y almacenar cepas altamente patógenas y de importancia para nuestro estudio como es *P. aeruginosa* y *A. baumannii*. Utilizamos medidas de bioseguridad para el manejo de las mismas y la implementación de la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, para el manejo de los Residuos peligrosos biológico-infecciosos.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para la descripción de las características generales se empleó estadística descriptiva. Para analizar la sensibilidad a Fosfomicina los datos de la enumeración se expresaron como valores porcentuales y de frecuencia.

## **CONSIDERACIONES ÉTICAS**

Este es un estudio que fue sin riesgo ya que solo se utilizaron datos de los microorganismos y su respectiva respuesta a un antimicrobiano en el laboratorio. Así mismo el proyecto fue aprobado por el Comité local de investigación en Salud de la U.M.A.E Hospital General Dr. Gaudencio González Garza “La Raza”. Se siguieron las leyes y normas tanto nacionales como internacionales para investigación clínica y aplicada a humanos: Ley general de Salud, artículos 17, 20, 100, 103 y pertinentes; declaración de Helsinki revisada, código de Nuremberg.

## RESULTADOS

Se recabaron un total de 250 aislamientos bacterianos consecutivos no duplicados especialmente de la familia *Enterobacteriaceae* y multidrogo-resistentes de muestras clínicas tomadas de pacientes hospitalizados y de población ambulatoria en el Hospital General Gaudencio González Garza del Centro Médico Nacional la Raza del IMSS en un periodo de tiempo comprendido del 1 de marzo del 2016 al 1 de marzo del 2017. De las cuales fueron: urocultivo 175, secreción bronquial 27, hemocultivo 11, herida quirúrgica 7, líquido peritoneal 6, líquido biliar 1, expectoración 14, biopsia de piel 5, punta de catéter 3, y exudado nasal 1. Se expresan en la gráfica de barras de la Figura 2.

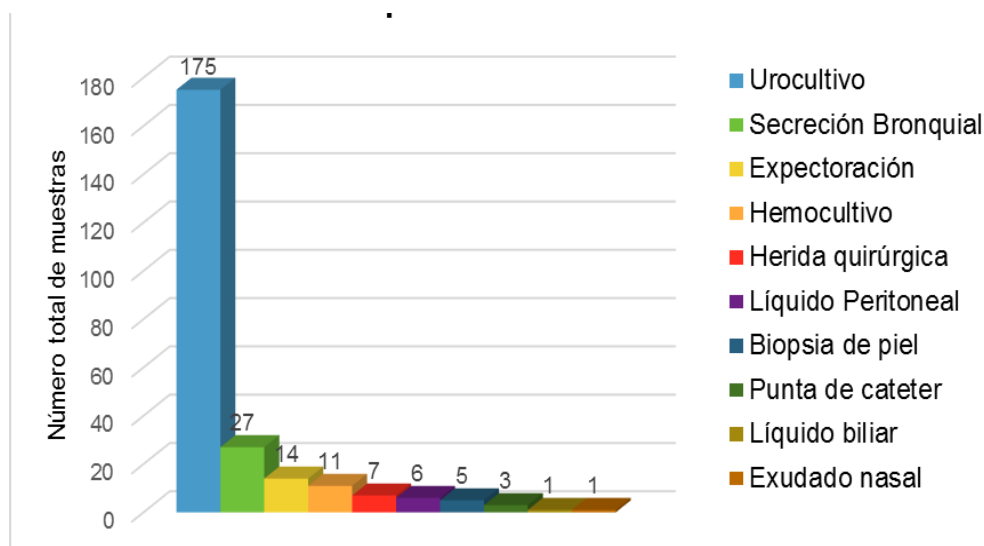


Figura 2. Resultado del análisis de las muestras clínicas recolectadas en nuestro estudio y clasificados por tipo de espécimen.

Se observa que la muestra más frecuente en nuestro estudio corresponde a urocultivo, esto debido a su alta demanda como estudio de tamizaje y seguimiento en las infecciones del tracto urinario en nuestro hospital, y de la cual se obtuvieron la mayor cantidad de microorganismos aislados.

De los microorganismos más frecuentemente identificados: *E. coli* 147, *P. aeruginosa* 32, *K. pneumoniae* 25, *K. oxytoca* 7, *E. cloacae* 7, entre otras, tal como se muestra en la **figura 3**.

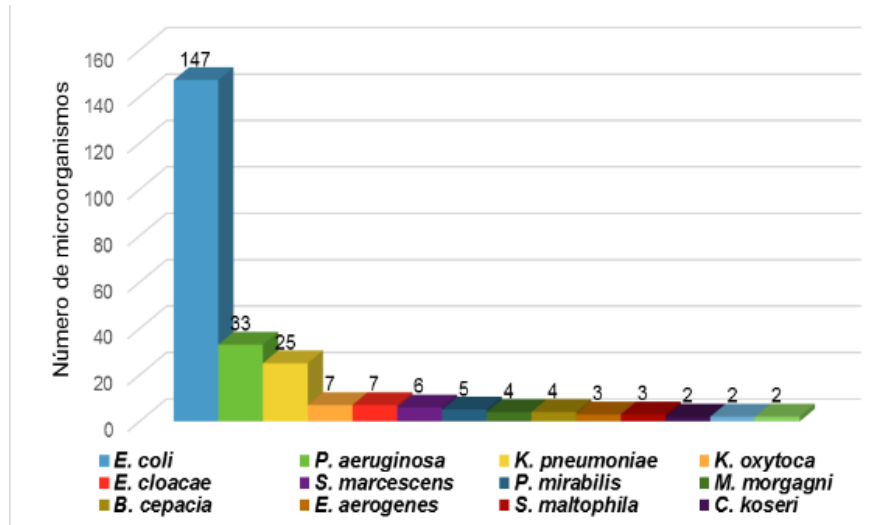


Figura 3. Resultado del análisis de las muestras clínicas, representando el número total de microorganismos aislados y de mayor frecuencia en nuestro estudio.

Además se encontró un 34% de los microorganismos BLEEs, resistente a Ampicilina 73.60%, Trimetoprim–Sulfametoxazol 63.20%, Cefazolina 60.00%, Ceftriaxona 57.20%, Ampicilina Sulbactam 52.40%, Ciprofluoxacino 51.60%, Cefepime 48.00%. Aztreonam 41.20%, representado en la **figura 4**.



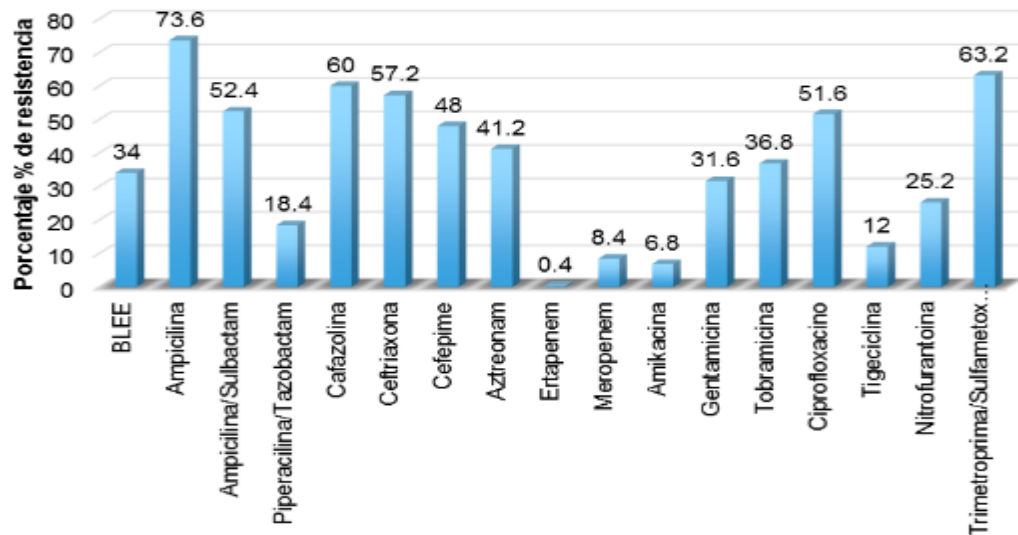


Figura 4. Resultado obtenido del análisis de antibiogramas, los números en la parte superior de las barras representan el porcentaje total de resistencia a los antibióticos convencionales de los microorganismos aislados en nuestro estudio.

Respecto a los datos anteriores se observa que la mayor resistencia de antibióticos tenemos a la familia de las penicilinas, en un segundo lugar a la familia de las Sulfonamidass, en tercero a Cefalosporinas de tercera generación y en cuarto lugar a Fluoroquinolonas, los cuales pertenecen a tratamientos de primera línea en la actualidad, sin embargo se observaron resistencias a Carbapenimicos y Monobactamicos.

Al recopilar los datos del número microorganismo sensibles y resistentes a Fosfomicina pudimos identificar que 224 cepas fueron sensibles (89.6%) y 26 cepas resistentes (10.4%) a este antimicrobiano, como se muestra en la **tabla 1**.

<b>Cepas</b>	<b>Sensibles (n)</b>	<b>Resistentes (n)</b>	<b>Sensibles (%)</b>	<b>Resistentes (%)</b>
<i>E. coli</i>	143	4	97.28	2.72
<i>K. pneumoniae</i>	24	1	96.00	4.00
<i>P. aeruginosa</i>	23	10	69.70	30.30
<i>K. oxytoca</i>	7	0	100.00	0.00
<i>M. morgagni</i>	0	4	0.00	100.00
<i>E. cloacae</i>	7	0	100.00	0.00
<i>P. vulgaris</i>	2	0	100.00	0.00
<i>A. baumannii</i>	1	1	50.00	50.00
<i>E. aerogenes</i>	3	0	100.00	0.00
<i>P. mirabilis</i>	5	0	100.00	0.00
<i>S. maltophila</i>	2	1	66.66	33.33
<i>S. marcescens</i>	5	1	83.33	16.67
<i>C. koseri</i>	2	0	100.00	0.00
<i>B. cepacia</i>	0	4	0.00	100.00
<b>Total</b>	224	26		

Tabla 1. Resultado de los microorganismos identificados, sometidos a un reto de sensibilidad con Fosfomicina.

## DISCUSIÓN

Nuestro estudio demuestra que Fosfomicina mantiene su actividad in vitro frente a cepas productoras de diferentes familias y tipos BLEE; de momento, no existe resistencia cruzada con otros grupos de antimicrobianos, lo que convierte a este antimicrobiano en una buena alternativa para el tratamiento infecciones causadas por estos patógenos multi-resistentes.

Como los datos de susceptibilidad a Fosfomicina procedentes de los Estados Unidos de América son limitados, creemos que estos datos respaldan las directrices internacionales que recomiendan el uso de Fosfomicina. Los futuros programas de vigilancia proporcionan información valiosa en relación con el estado actual de la resistencia a los antimicrobianos y puede conducir a una prescripción más adecuada.

La resistencia a los antibióticos y en particular la de los uropatógenos, como *E. coli*, está llevando al resurgimiento de antibióticos como Fosfomicina.<sup>21</sup> El perfil de multirresistencia que expresan estas cepas ocasiona un problema terapéutico importante, tanto en el ámbito hospitalario como en la comunidad. Tal es el caso del incremento de la resistencia bacteriana contra Trimetoprim-sulfametoxazol y las Fluoroquinolonas, que se requiere plantear alternativas terapéuticas, especialmente en el tratamiento ambulatorio oral de las infecciones causadas por *E. coli* BLEE. Varios estudios previos han demostrado que la Fosfomicina puede actuar sinérgicamente con Beta-lactámicos y con Aminoglucósidos.<sup>22,23,24</sup> Sin embargo, este agente antimicrobiano todavía no se utiliza comúnmente en México y no está incluido en el cuadro básico de los diferentes servicios prestadores de salud en el país, sabiendo que la tasa de resistencia a Fosfomicina en cepas clínicas de *E. coli* sigue siendo muy baja. La susceptibilidad antimicrobiana de las Enterobacterias a Fosfomicina no se ha evaluado todavía en México. En este estudio, se intentó evaluar la actividad antimicrobiana in vitro de la Fosfomicina contra cepas MDR.

Un estudio realizado por Hsin-Yi Liu, et al., en Taiwan en el año 2010 donde se recogieron 200 aislamientos de orina, incluidos 134 *E. coli* productor de BLEE y 66

de *K. pneumoniae* productora de BLEE demostró que la Fosfomicina tiene una buena actividad antimicrobiana contra *E. coli* BLEE pero una menor actividad frente a *K. pneumoniae*. Por lo cual los datos obtenidos en nuestro estudio concuerdan con la literatura internacional.<sup>25</sup>

El uso de las tecnologías actuales como MALDI-TOF MS y VITEK 2XL ha revolucionado la identificación bacteriana en los laboratorios microbiológicos como una herramienta innovadora, rápida, precisa, económica que se ha integrado en el flujo de trabajo del laboratorio reemplazando las técnicas bioquímicas o moleculares tradicionales.<sup>26,27</sup>

El uso de este antimicrobiano en el ambiente hospitalario ha sido limitado desde hace varios años ya que su costo es elevado, sin embargo, es una opción terapéutica que debería tomarse en cuenta en el sistema de salud para los pacientes de difícil manejo sin más opciones de tratamiento, lo que se vería reflejado en la disminución: en la morbimortalidad, en los días de estancia hospitalaria y los costos de atención.

## LIMITACIONES

Este estudio tiene varias limitaciones, incluyendo haberse realizado en solo un centro hospitalario, los números de aislamiento recolectados para varias especies, incluyendo *Pseudomonas Aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*.

## **CONCLUSIONES**

La utilización de Fosfomicina es una opción terapéutica adecuada ante infecciones por microorganismos multidrogo resistentes así como de la familia de las Enterobacterias, debido a los resultados obtenidos donde podemos afirmar de manera invitro tiene una buena respuesta contra la mayoría de patogenos que son tratados con antibioticos convencionales, por tal motivo puedo considerarse una opcion terapeutica ante microorganismos multidrogo-resistentes.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Martin, D et al. "Prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase Producing Escherichia Coli in Community-Onset Urinary Tract Infections in France in 2013." *J Infect* 72.2 (2016): 201–206.
2. Kahlmeter, Gunnar, and Hanna Odén Poulsen. "Antimicrobial Susceptibility of Escherichia Coli from Community-Acquired Urinary Tract Infections in Europe: The ECO·SENS Study Revisited." *International Journal of Antimicrobial Agents* 39.1 (2012): 45–51.
3. Hendlin D, Stapley EO, Jackson M, Wallick H, Miller AK, Wolf FJ, et al. Phosphonomycin, a new antibiotic produced by strains of streptomyces. *Science* (1969);166:122-3.
4. De Cueto, Marina et al. "Actividad de Fosfomicina Sobre Cepas de Escherichia Coli y Klebsiella Pneumoniae Productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido." *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 24.10 (2006): 613–616.
5. Kahan, Frederick M. et al. "THE MECHANISM OF ACTION OF FOSFOMYCIN (PHOSPHONOMYCIN)." *Annals of the New York Academy of Sciences* 235.1 (1974): 364–386.
6. Kadner, R. J., and H. H. Winkler. "Isolation and Characterization of Mutations Affecting the Transport of Hexose Phosphates in Escherichia Coli." *Journal of Bacteriology* 113.2 (1973): 895–900.
7. Lu, Ching Lan et al. "Antimicrobial Susceptibilities of Commonly Encountered Bacterial Isolates to Fosfomicin Determined by Agar Dilution and Disk Diffusion Methods." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 55.9 (2011): 4295–4301.
8. Li, Ya et al. "Antimicrobial Susceptibility and Molecular Mechanisms of Fosfomicin Resistance in Clinical Escherichia Coli Isolates in Mainland China." *PLoS ONE* 10.8 (2015): n. pag. *PLoS ONE*.
9. Bergan T. Degree of absorption, pharmacokinetics of fosfomicin trometamol and duration of urinary antibacterial activity. *Infection* 1990;18:65-9.

10. Patel SS, Balfour JA, Bryson HM. Fosfomycin tromethamine. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy as a single-dose oral treatment for acute uncomplicated lower urinary tract infections. *Drugs* 1997;53:637e56.
11. Yilmaz, Nisel et al. "Antimicrobial Susceptibilities of Escherichia Coli Isolates as Agents of Community-Acquired Urinary Tract Infection (2008-2014)." *Turk Uroloji Dergisi* 42.1 (2016): 32–36.
12. Sastry, Sangeeta et al. "Clinical Appraisal of Fosfomycin in the Era of Antimicrobial Resistance." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 59.12 (2015): 7355–7361.
13. Falagas, Matthew E. et al. "Antimicrobial Susceptibility of Gram-Positive Non-Urinary Isolates to Fosfomycin." *International Journal of Antimicrobial Agents* 35.5 (2010): 497–499.
14. Bouchillon, Sam K. et al. "Antimicrobial Susceptibility of Inpatient Urinary Tract Isolates of Gram-Negative Bacilli in the United States: Results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) Program: 2009-2011." *Clinical Therapeutics* 35.6 (2013): 872–877.
15. Neuner, Elizabeth A. et al. "Experience with Fosfomycin for Treatment of Urinary Tract Infections Due to Multidrug-Resistant Organisms." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 56.11 (2012): 5744–5748.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fifth informational supplement. Wayne, PA. 2015.
17. Barry, A. L., and P. C. Fuchs. "In Vitro Susceptibility Testing Procedures for Fosfomycin Tromethamine." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 35.6 (1991): 1235–1238.
18. Albur, Mahableshwar S. et al. "The Combination of Colistin and Fosfomycin Is Synergistic against NDM-1-Producing Enterobacteriaceae in in Vitro Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model Experiments." *International Journal of Antimicrobial Agents* 46.5 (2015): 560–567.



19. Yeganeh-Sefidan, Fatemeh et al. "Fosfomycin, Interesting Alternative Drug for Treatment of Urinary Tract Infections Created by Multiple Drug Resistant and Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase Producing Strains." *Iranian Journal of Microbiology* 8.2 (2016): 125–131.
20. Ça, Sabahat et al. "CLSI ve EUCAST Önerilerine Göre Geniş Lemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten Escherichia Coli İzolatlarında Fosfomisin Duyarlılığı \* Fosfomycin Susceptibility of Urinary Escherichia Coli Isolates Producing Extended-Spectrum Beta-Lactamas." 48.4 (2014): 545–555.
21. Hirsch, Elizabeth B. et al. "Activity of Fosfomycin and Comparison of Several Susceptibility Testing Methods against Contemporary Urine Isolates." *International Journal of Antimicrobial Agents*. Vol. 46. Elsevier, 2015. 642–647.
22. Okazaki M, Suzuki K, Asano N, Araki K, Shukuya N, Egami T, et al. Effectiveness of fosfomycin combined with other antimicrobial agents against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates using the efficacy time index assay. *J Infect Chemother* (2002); 8:37–42.
23. Olay TA, Rodriguez A, Oliver LE, Vicente MV, Quecedo MC. Interaction of fosfomycin with other antimicrobial agents: in vitro and vivo studies. *J Antimicrob Chemother* (1978);4:569–76.
24. Hayami H, Goto T, Kawahara M, Ohi Y. Activities of  $\beta$ -lactams, fluoroquinolones, amikacin and fosfomycin alone and in combination against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from complicated urinary tract infections. *J Infect Chemother* (1999);5:130–8.
25. Liu, Hsin Yi et al. "Antimicrobial Susceptibilities of Urinary Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia Coli* and *Klebsiella Pneumoniae* to Fosfomycin and Nitrofurantoin in a Teaching Hospital in Taiwan." *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 44.5 (2011): 364–368.

26. Marlène Sauget, Benoît Valot, Xavier Bertrand, et al. Can MALDI-TOF Mass Spectrometry Reasonably Type Bacteria? *Trends in Microbiology*, Month Year, (2016); Elsevier Ltd Vol. xx, No. Yy.
27. R. P. Rennie *et al.*, Multicenter evaluation of the new Vitek 2 Neisseria-Haemophilus identification card. *Journal of Clinical Microbiology*. 46, 2681–2685 (2008).