

Carmen Rodríguez-Avial^{1,2}
Iciar Rodríguez-Avial²
Elena Hernández³
Juan. J. Picazo^{1,2}

Aumento significativo de la resistencia a fosfomicina en cepas de *Escherichia coli* productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) aisladas de urocultivos (2005-2009-2011)

¹Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid.

²Servicio de Microbiología. Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

³Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

RESUMEN

Introducción. *Escherichia coli* es el principal uropatógeno. La aparición de cepas productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), que con frecuencia presentan multiresistencia, deja pocas opciones terapéuticas, y es necesario realizar un seguimiento de su sensibilidad a lo largo del tiempo. En el presente trabajo se presentan los porcentajes de aislados urinarios de *E.coli* productores de BLEE durante 2005, 2009 y 2011 y se comparan los resultados de la determinación de su sensibilidad a antibióticos de diferentes grupos, fosfomicina entre ellos.

Métodos. Se analizaron 5.053, 6.324 y 6.644 aislados urinarios de *E. coli* en 2005, 2009 y 2011 respectivamente. Se excluyeron duplicados. La sensibilidad se determinó por microdilución con el sistema Wider (Soria Melguizo S.A.) y se seleccionó el fenotipo que indicaba producción de BLEE (CLSI 2009).

Resultados. El 3,9% de las cepas (198) resultó productor de BLEE en 2005, el 7,3% (463) en 2009 y el 8,7% (584) en 2011. Se detectó resistencia a carbapenémicos en 2009, aunque continúan con un 95% de sensibilidad. Entre los no- β -lactámicos, colistina fue el más activo, seguido de nitrofurantoina. Ciprofloxacino y sulfametoxazol-trimetoprim presentaron un 80% y 60% de resistencia, respectivamente. Se observó una tendencia al aumento de la resistencia en fosfomicina, desde 0% a 9,3 llegando al 14,4% en 2011.

Conclusiones. Se observó una creciente prevalencia de cepas de *E. coli* productoras de BLEE aisladas de urocultivos, alcanzando el 8,7% en 2011. Los carbapenémicos siguen siendo los antibióticos más activos frente a este tipo de cepas. El aumento de resistencia a fosfomicina fue significativo.

Palabras clave: *Escherichia coli*, BLEE, UTI, fosfomicina. coresistencia.

Increasing prevalence of fosfomycin resistance in extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* urinary isolates (2005-2009-2011)

ABSTRACT

Introduction. *Escherichia coli* is the most important uropathogen. The appearance of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *E.coli* in urinary tract infections (UTI) constitutes an important therapeutic challenge that requires the study of its evolution throughout time in order to establish a suitable empirical treatment. Our aim was to determine the prevalence of ESBL-producing *E. coli* urinary isolates in 2005, 2009 and 2011. We also determined the antimicrobial coresistance to several agents, including fosfomycin.

Methods. We analyzed 5053, 6324 and 6644 *E. coli* isolates obtained from urine cultures in 2005, 2009 and 2011 respectively. Duplicate isolates were excluded. Antimicrobial susceptibility was determined by the Wider microdilution system (Soria Melguizo S.A.) and the phenotypic pattern of resistance that indicated a BLEE-producing *E.coli* was selected (CLSI 2009).

Results. 3.9% of strains (198) were ESBL producers in 2005, 7.3% (463) in 2009 and 8.7% (584) in 2011. Resistance to carbapenems was detected in 2009, they inhibited more than the 95% of strains in 2011. Among the non-beta-lactams, colistin was the most active antibiotic followed by nitrofurantoin. Ciprofloxacin and sulfamethoxazole-trimethoprim were not effective with 80% and 60% resistant isolates, respectively. An increasing resistance trend, from 0% to 9.3% in 2009 and 14.4% in 2011 was observed for fosfomycin.

Conclusions. From 2005 our institution had an increasing prevalence of ESBL-producing *E. coli* rising to 8.7% in 2011. Carbapenems are still the most active agents. The increase of resistance was significant for fosfomycin.

Key words: *Escherichia coli*, ESBL, UTI, fosfomycin. coresistance

Correspondencia:
Carmen Rodríguez-Avial López-Doriga
Servicio de Microbiología. Hospital Clínico San Carlos.
Profesor Martín Lagos s/n, 28040, Madrid, Spain.
Tfno: 913303486
Fax: 9133303478
E-mail: cravial@med.ucm.es

INTRODUCCIÓN

El aislamiento de cepas de *Escherichia coli* productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) aumenta constantemente en el mundo^{1,2}, así como en nuestro país donde se debe principalmente a cepas aisladas de infecciones urinarias en la comunidad^{3,4}. Los plásmidos que determinan las BLEE contienen, con frecuencia, otros genes de resistencia para distintos antimicrobianos, como aminoglucósidos, tetraciclinas y cotrimoxazol^{3,5}. Además, las cepas productoras de BLEE son con más frecuencia resistentes a quinolonas, por diferentes mecanismos, que las cepas no productoras de BLEE^{6,7}. Todo ello determina que las opciones terapéuticas para las infecciones causadas por bacterias productoras de BLEE sean muy limitadas^{8,9}.

La eficacia de fosfomicina, un viejo antibiótico, está siendo revisada en los últimos años debido a su buena actividad frente a enterobacterias multirresistentes^{8,9,10}, especialmente *E.coli* productor de BLEE^{11,12}, incluyendo cepas resistentes a ciprofloxacino¹³, y recomendándose para el tratamiento de las infecciones del tracto urinario producidas por cepas de *E.coli* productoras de BLEE^{10,14,15}.

En el presente trabajo presentamos los porcentajes de aislados urinarios de *E.coli* productores de BLEE durante los años 2005, 2009 y 2011, y comparamos los resultados de sensibilidad a antibióticos de diferentes grupos, entre ellos fosfomicina.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el laboratorio de Microbiología del Hospital Clínico San Carlos se aislaron en los años 2005, 2009 y 2011 un total de 5.053, 6.324 y 6.644 *E. coli* procedentes de muestras de orina, respectivamente.

Los aislamientos clínicos se identificaron usando los paneles del sistema Wider (Soria Melguizo, S.A. Madrid); se revisaron los antibiogramas de *E. coli* realizados con este sistema comercial de microdilución y se seleccionaron los aislados en los que "el experto" del sistema indicaba "posible productora de BLEE". Se excluyeron duplicidades y se seleccionaron 198

cepas con estas características durante el año 2005, 463 durante 2009 y 584 durante 2011.

El estudio de sensibilidad a los antimicrobianos se llevó a cabo por el sistema Wider, ya mencionado. Los puntos de corte aplicados en todos los casos son los del CLSI 2009¹⁶.

El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo con el programa Epidat 3.1. Como medidas de asociación se calculó la Odds Ratio con un intervalo de confianza del 95%. En todas las comparaciones se realizó la hipótesis nula con una $p < 0,05$.

RESULTADOS

La prevalencia de *E.coli* productores de BLEE entre los aislados de urocultivos en nuestro laboratorio durante 2005 fue del 3,9% (198 cepas), durante 2009 fue del 7,3 % (463 cepas) y en 2011 del 8,7 (584 cepas).

La sensibilidad a los antibióticos β -lactámicos estudiados aparece en la tabla 1, donde se comparan los porcentajes obtenidos los tres años de estudio. No figuran amoxicilina, cefalosporinas de 1ª generación ni cefuroxima porque el 100% son resistentes, ni cefotaxima, ceftazidima, aztreonam y cefepima porque el experto las da 100% de resistencia. En la tabla 2 se comparan los porcentajes de sensibilidad obtenidos estos tres años a los antibióticos no β -lactámicos.

DISCUSIÓN

En el segundo estudio de la prevalencia global en España de *E. coli* productores de BLEE, publicado en 2006, encontraron un 4,04%⁴ lo que supone que se ha multiplicado por 8 respecto al estudio anterior³. El 3,5% encontrado en este trabajo junto al incremento de los años posteriores, alcanzando el 8,7% en 2011 se encuadra en la creciente prevalencia de las enterobacterias productoras de BLEEs en Europa² y en el resto del mundo, donde entre los *E. coli*, de origen hospitalario, encuentran una prevalencia mundial del 17,9%¹.

En los años 2000 aparecen las primeras cepas no sensibles a carbapenémicos¹⁷, presentaban alteraciones en porinas

Tabla 1 Sensibilidad a los antibióticos β -lactámicos, comparación de los porcentajes obtenidos los tres años de estudio

Antibióticos β -lactámicos	2005			2009			2011		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Amoxicilina/clavulánico	79,2	16,3	4,5	26,6	16,8	56,6	26,9	17,8	55,3
Cefoxitina	93,4	4,9	1,7	88	3,8	8,2	89,3	6,8	3,9
Piperacilina/tazobactam	84,1	8,8	7,1	68,0	13,8	18,2	81	13,2	5,8
Imipenem	100	0	0	99,1	0,2	0,7	95,8	1,5	2,7
Meropenem	100	0	0	98,5	0,2	1,3	98,6	0	1,4
Ertapenem	-	-	-	98	1,1	0,9	97,6	0	2,4

Tabla 2 Sensibilidad a los antibióticos no β -lactámicos, comparación de los porcentajes obtenidos los tres años de estudio

Antibióticos no β -lactámicos	2005			2009			2011		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Ac. nalidixico	11,0	0	89,0	12,7	0	87,3	13,7	0	86,3
Ciprofloxacino	18,6	1,1	80,3	22,6	2	75,4	20	1,8	78,2
Fosfomicina	100	0	0	90,7	0	9,3	85,6	0	14,4
Nitrofurantoina	92,3	0	7,7	91,8	0	8,2	94,2	0	5,8
SXT	39,3	0	60,7	37,8	0	62,2	37,7	0	62,3
Colistina	98,3	0	1,7	96,8	0	3,2	96,4	0	3,6
Minociclina	-	-	-	65,9	14	20,1	67	9	24

SXT: sulfametoxazol-trimetoprim

asociadas con la producción de BLEEs que afectaban fundamentalmente a ertapenem¹⁷, como se ve en este trabajo en 2009, cuya sensibilidad baja al 98%. Posteriormente aparecen las carbapenemasas⁹, a veces asociadas a BLEE¹⁸, y a otras β -lactamasas, lo que dificulta cada vez más la detección del tipo de β -lactamasa implicado por el análisis de fenotipo de resistencia⁹. Estas asociaciones podrían explicar el aumento de resistencia encontrado para los β -lactámicos analizados. A pesar de lo cual, los carbapenémicos siguen siendo los antibióticos más activos frente a los *E.coli* productoras de BLEE, inhibiendo a más del 95% de las cepas como se encuentra en otros estudios^{1,14,15}.

Al comparar las resistencias obtenidas estos años entre nuestros *E.coli* productoras de BLEE a los antibióticos no β -lactámicos encontramos un alto nivel de resistencia a quinolonas, mantenido a lo largo del tiempo, concretamente en torno al 80% para ciprofloxacino. Lo mismo ocurre con sulfametoxazol-trimetoprim alrededor del 60%. Estos datos coinciden con la mayoría de los autores consultados en España¹¹ y fuera^{8,15}.

Entre los antibióticos con menores porcentajes de resistencia se encuentra nitrofurantoina^{11,15} que se considera una alternativa para el tratamiento oral de las infecciones por *E.coli* productor de BLEE^{8,14,15}.

Colistina es una de las pocas alternativas para el tratamiento de las enterobacteria multirresistentes⁹ en nuestro estudio resultó el más activo de los antibióticos no β -lactámicos ensayados.

En cuanto a fosfomicina, muestra una buena actividad frente a las cepas de *E.coli* productoras de BLEE tanto en España, con porcentajes de resistencia entre el 2,6¹² y el 5,6¹¹, como en otros países, donde está en torno al 3%^{8,10,15,19}. Falagas et al.¹⁰, en una revisión de 17 estudios, encuentran que fosfomicina fue clínicamente efectiva en el 93,8 de los pacientes con ITU por *E.coli* productor de BLEE y la aconsejan para el tratamiento

empírico de las ITU. Sin embargo al estudiar aislados de *E.coli* productoras de CTX-M y resistentes a fosfomicina se observaron determinantes de resistencia a fosfomicina transmisibles con las consiguientes implicaciones para su diseminación¹⁹. En un estudio multicéntrico español²⁰ encuentran, al igual que nosotros, un aumento significativo de la resistencia a fosfomicina entre 2005 y 2009. En el presente trabajo se determina que este aumento continúa en 2011, llegando a un 14,4% de aislados resistentes a fosfomicina. Uno de los factores relacionados con el aumento de la resistencia a fosfomicina en los *E.coli* productoras de BLEE aislados de urocultivos en España puede ser el aumento del uso de fosfomicina en la comunidad en los últimos años²⁰.

Concluimos por tanto que en el presente trabajo se observó una creciente prevalencia de cepas de *E. coli* productoras de BLEE aisladas de urocultivos, alcanzando el 8,7% en 2011, que los carbapenémicos siguen siendo los antibióticos más activos frente a este tipo de cepas, que entre las alternativas orales están nitrofurantoina y fosfomicina, pero que el aumento de resistencia que hemos encontrado a fosfomicina fue significativo.

BIBLIOGRAFÍA

- Hoban DJ, Nicolle LE, Hawser S, Bouchillon S, Badal R. Antimicrobial susceptibility of global inpatient urinary tract isolates of *Escherichia coli*: results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) program: 2009-2010. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011; 70:507-11.
- Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Euro Surveill* 2008;13(47).
- Hernández JR, Pascual A, Cantón R, Martínez-Martínez L, Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria (GEIH). *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de β -lactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIH-BLEE

- 2000). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003; 21:77-82.
4. Díaz MA, Hernández JR, Martínez-Martínez L, Rodríguez-Baño J, Pascual A; Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria (GEIH). Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Spanish hospitals: 2nd multicenter study (GEIH-BLEE project, 2006). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2009; 27:503-10.
 5. Schultz C, Geerlings S. Plasmid-mediated resistance in *Enterobacteriaceae*: changing landscape and implications for therapy. *Drugs* 2012; 72:1-16.
 6. Ríos E, Rodríguez-Avial I, Rodríguez-Avial C, Hernandez E, Picazo JJ. High percentage of resistance to ciprofloxacin and qnrB19 gene identified in urinary isolates of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Madrid, Spain. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010; 67:380-3.
 7. Briales A, Rodríguez-Martínez JM, Velasco C, de Alba PD, Rodríguez-Baño J, Martínez-Martínez L et al. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants qnr and aac(6)-Ib-cr in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β -lactamasas in Spain. *Int J Antimicrob Agents* 2012; 39:431-4.
 8. 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.
 9. Livermore DM. Current Epidemiology and Growing Resistance of Gram-Negative Pathogens. *Korean J Intern Med.* 2012; 27:128-42.
 10. Falagas ME, Kastoris AC, Kapaskelis AM, Karageorgopoulos DE. Fosfomicin for the treatment of multidrug-resistant, including extended-spectrum β -lactamase producing, *Enterobacteriaceae* infections: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2010; 10: 43-50
 11. Hernández MS, García JA, Muñoz JL. In vitro activity of fosfomicin against ESBL-producing enterobacteria of urinary origin. *Rev Esp Quimioter* 2009; 22:25-9.
 12. de Cueto M, López L, Hernández JR, Morillo C, Pascual A. In vitro activity of fosfomicin against extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: comparison of susceptibility testing procedures. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:368-70.
 13. Ko KS, Suh JY, Peck KR, Lee MY, Oh WS, Kwon KT, et al. In vitro activity of fosfomicin against ciprofloxacin-resistant or extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from urine and blood. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 58:111-5.
 14. Auer S, Wojna A, Hell M. Oral treatment options for ambulatory patients with urinary tract infections caused by extended-Spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 9:4006-08.
 15. Titelman E, Iversen A, Kahlmeter G, Giske CG. Antimicrobial susceptibility to parenteral and oral agents in a largely polyclonal collection of CTX-M-14 and CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *APMIS* 2011; 119:853-63.
 16. Clinical and Laboratory standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 19th CLSI Informational Supplement. CLSI Document M100-S19, Wayne,PA. CLSI 2009.
 17. Grundmann H, Livermore DM, Giske CG, Canton R, Rossolini GM, Campos J, et al. Carbapenem-non-susceptible *Enterobacteriaceae* in Europe: conclusions from a meeting of national experts. *Euro Surveill* 2010; 15(46).
 18. Rodríguez-Avial C, Rodríguez-Avial I, Merino P, Picazo JJ. *Klebsiella pneumoniae*: development of a mixed population of carbapenem and tigecycline resistance during antimicrobial therapy in a kidney transplant patient. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18:61-6.
 19. Wachino J, Yamane K, Suzuki S, Kimura K, Arakawa Y. Prevalence of fosfomicin resistance among CTX-M-producing *Escherichia coli* clinical isolates in Japan and identification of novel plasmid-mediated fosfomicin-modifying enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54:3061-64.
 20. Oteo J, Bautista V, Lara N, Cuevas O, Arroyo M, Fernández S, et al. Parallel increase in community use of fosfomicin and resistance to fosfomicin in extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65:2459-63.