

## Aspectos actuales en fosfomicina

María Díez-Aguilar  
Rafael Cantón

### Nuevos aspectos microbiológicos de la fosfomicina

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal e Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS). Madrid. Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI).

#### RESUMEN

El descubrimiento de la fosfomicina hace más de cuarenta años supuso un hito importante en la antibioterapia con un mayor reconocimiento actual por su utilidad, sola o en asociación, en el tratamiento de las infecciones producidas por microorganismos multirresistentes. Tanto la EMA como la FDA tienen procesos abiertos para revisar la información acumulada sobre su uso y la procedente de los nuevos ensayos clínicos realizados con este compuesto con el objetivo de establecer criterios comunes de utilización en Europa y autorizar su comercialización en los EEUU, respectivamente. Su mecanismo de acción único hace que no tenga resistencia cruzada con otros antibióticos. Sin embargo, se han descrito diferentes mecanismos de resistencia a la fosfomicina, siendo la inactivación enzimática, esencialmente asociada al gen plasmídico *fosA3*, el más importante desde el punto de vista epidemiológico. Se ha encontrado con mayor prevalencia en Asia en *Enterobacteriales* productores de betalactamasas de espectro extendido y carbapenemasas. Aunque fosfomicina presenta menor actividad intrínseca frente a *Pseudomonas aeruginosa* en comparación con la que presenta frente a *Escherichia coli*, se ha destacado su actividad en biopelículas, sobre todo en asociación con aminoglucósidos. El actual posicionamiento de fosfomicina en el arsenal terapéutico en el tratamiento de infecciones producidas por microorganismos multirresistentes, hace necesario nuevos esfuerzos para ampliar su conocimiento, incluido el relacionado con los métodos utilizados en el estudio de sensibilidad en el laboratorio.

**Palabras clave:** fosfomicina; mecanismos de resistencia; estudio de sensibilidad, biopelículas, combinaciones de antimicrobianos

Correspondencia:  
Rafael Cantón  
Servicio de Microbiología. Hospital Ramón y Cajal e Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS). Madrid. Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI).  
E-mail: [rafael.canton@salud.madrid.org](mailto:rafael.canton@salud.madrid.org)

#### INTRODUCCIÓN

Fosfomicina, antibiótico bactericida producido entre otros por *Streptomyces fradiae*, fue descubierta por un equipo español de la Compañía Española de Penicilina y Antibióticos en 1969. Desde entonces ha sido empleada en numerosos países con diferentes indicaciones tanto en su formulación intravenosa (sal disódica) como por vía oral (sal cálcica o trometamol). En los últimos años su uso ha aumentado de manera espectacular, debido a la gran incidencia de microorganismos multirresistentes en los que fosfomicina constituye, sola o en combinación, una alternativa terapéutica [1,2]. Debido a la gran diferencia de uso en diferentes países, la necesidad de establecer criterios comunes y al aumento del conocimiento sobre este antibiótico, la *European Medicines Agency* (EMA) ha abierto un proceso por el cual pretende recoger las evidencias que sustentan sus indicaciones y autorizar y armonizar los criterios de su uso en Europa (<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/referrals/fosfomicin-containing-medicinal-products>). Por otra parte, en los Estados Unidos la *Food and Drug Administration* (FDA) incluyó a fosfomicina, según el laboratorio que desarrolla los ensayos clínicos de este antibiótico, en la lista de fármacos con actividad antimicrobiana (*Qualified Infectious Disease Product*) que facilita una revisión prioritaria de los resultados de los ensayos clínicos y un proceso acelerado de registro (<https://www.nabriva.com/pipeline-research>).

La realización de estudios de vigilancia epidemiológica en los que se incluye fosfomicina, los nuevos ensayos clínicos de este antimicrobiano, así como los trabajos de farmacocinética-farmacodinamia (PK-PD) necesarios para sustentar su formulación y entender el significado del posible desarrollo de resistencias, ha ampliado el conocimiento microbiológico de este fármaco. En objetivo de este artículo es revisar estas nuevas evidencias desde un prisma microbiológico que respalden su uso clínico.

## MECANISMO DE ACCIÓN Y FARMACODINAMIA DE FOSFOMICINA

Fosfomicina posee un mecanismo de acción único, bloqueando el primer paso de la síntesis del peptidoglucano. El transporte de fosfomicina al interior de la bacteria se realiza mediante permeasas, como son el transportador del glicerol 3-fosfato y el transportador de la glucosa 6-fosfato (G6P), GlpT y UhpT, respectivamente. Mientras que GlpT mantiene una actividad basal sin ser inducido, UhpT carece de actividad en ausencia de la G6P. Una vez en el interior de la célula bacteriana, fosfomicina inhibe la enzima UDP-N-acetilglucosamina-enolpiruvil transferasa (MurA), responsable de catalizar la formación de N-acetilmuránico (precursor del peptidoglucano) a través de la unión de N-acetilglucosamina y fosfoenolpiruvato. Fosfomicina es un análogo del fosfoenolpiruvato, con un anillo epóxido, esencial en su mecanismo de acción, y un grupo fosfónico. Se une covalentemente a MurA inhibiéndola y provocando así la lisis de la célula bacteriana (figura 1).

Por tanto, se trata de un compuesto bactericida que actúa sobre las bacterias en fase de crecimiento. El hecho de que tanto las bacterias grampositivas como las gramnegativas necesiten la formación del N-acetilmuránico para la síntesis del peptidoglucano, hace que el espectro de acción de fosfomicina sea muy amplio. Así mismo, no hay posibilidad de resistencias cruzadas con este compuesto, por lo que se ha empleado para el tratamiento de infecciones por patógenos multirresistentes como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), estafilococos coagulasa negativos resistentes a meticilina (SCNRM), enterococos resistentes a la vancomicina (ERV), *Streptococcus pneumoniae* resistentes a penicilina, enterobacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas (EPC) y *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes [3].

En cuanto a sus propiedades físico-químicas, fosfomicina es una molécula de bajo peso molecular, soluble en agua, con baja unión a proteínas plasmáticas que difunde fácilmente a la mayoría de tejidos y al líquido intersticial. Se ha demostrado

que penetra y alcanza concentraciones relevantes en tejidos inflamados, humor acuoso y vítreo, hueso y pulmón [4]. Así mismo, accede activamente al interior de los leucocitos polimorfonucleares. Se excreta casi exclusivamente por orina en forma no metabolizada [5].

El parámetro PK-PD asociado a su actividad bacteriológica no está claramente definido y parece ser dependiente del microorganismo. Según los últimos estudios, en bacilos gramnegativos (*P. aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Proteus* spp.) se ha establecido que el parámetro PK-PD que mejor predice su actividad es el AUC/MIC [6,7], mientras que en *S. aureus* y enterococo tiene comportamiento tiempo-dependiente ( $T > CMI$ ) [8]. Así mismo, se ha demostrado un efecto post-antibiótico elevado, incluso a concentraciones subinhibitorias [9].

En relación a *P. aeruginosa* se han publicado diversos estudios que tratan de elucidar el parámetro PK-PD que determina la actividad de fosfomicina en este microorganismo, con algunas discrepancias en los resultados. En un modelo murino se observó que el AUC/CMI es el parámetro que mejor se ajusta a la actividad de fosfomicina [6], mientras que en otros estudios demuestran que es un antibiótico tiempo-dependiente [10]. Bilal *et al.* determinaron que el parámetro PK-PD que determina la actividad bactericida total de fosfomicina en *P. aeruginosa* es el AUC/CMI, mientras que el  $T > CMI$  se relaciona con la supresión de resistencias [11].

## MECANISMOS DE RESISTENCIA A FOSFOMICINA

La resistencia a fosfomicina se puede producir por tres mecanismos diferentes: a) afectación del transporte, b) alteración de la diana de actuación y c) inactivación enzimática (tabla 1) [5,12,13]. El primero de ellos, se origina por mutaciones en genes cromosómicos de los transportadores GlpT o UhpT o en sus genes reguladores, impidiéndose la llegada de fosfomicina a su lugar de actuación. Se ha descrito esencialmente en aislados de *E. coli* y *P. aeruginosa*. En *Acinetobacter baumannii* se ha demostrado que mutaciones en el gen cromosómico *abrp*, esencial para el crecimiento de la bacteria e implicado en la

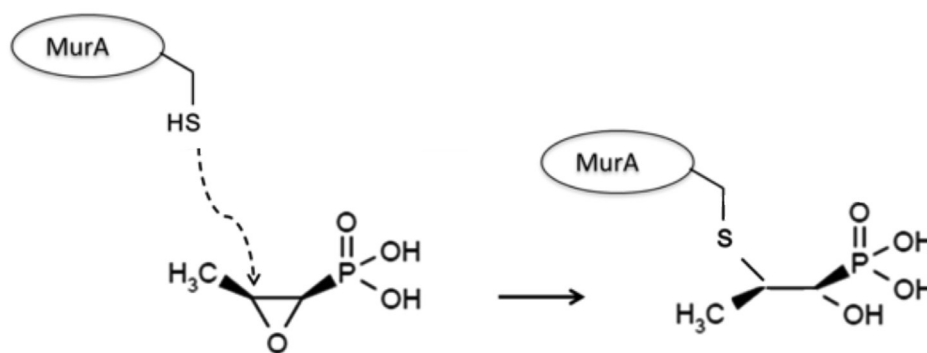


Figura 1 Mecanismo de acción de la fosfomicina

Tabla 1		Mecanismos de resistencia a fosfomicina	
Proceso	Mecanismo de resistencia	Microorganismo	Localización
Disminución del transporte	Mutaciones en los genes de transportadores <i>glpT</i> o <i>uhpT</i>	<i>Escherichia coli</i>	Crom
	Mutaciones en genes reguladores de <i>glpT</i> o <i>uhpT</i>	<i>Escherichia coli</i>	Crom
	Mutaciones en <i>cyaA</i> y <i>ptsI</i> (regulan AMPc para <i>glpT</i> )	<i>Escherichia coli</i>	Crom
	Mutaciones en <i>abrp</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Crom
Alteración de la diana o de su expresión	Mutaciones en <i>murA</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <sup>a</sup> , <i>Vibrio fischeri</i> <sup>b</sup> , <i>Escherichia coli</i>	Crom
	Aumento de la expresión de <i>murA</i>	<i>Escherichia coli</i>	Crom
	Vías alternativas a MurA en la síntesis del peptidoglicano	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <sup>b,c</sup> , <i>Pseudomonas putida</i> <sup>b</sup>	Crom
	Escasa participación de MurA en el ciclo biológico	<i>Chlamydia trachomatis</i> <sup>a</sup>	Crom
Inactivación	Inactivación por metaloenzimas por incorporar		
	- glutatión (FosA, FosA2, FosA3, FosA4, FosA5, FosA6, ...)	<i>Enterobacterales</i> <sup>c</sup> , <i>Pseudomonas spp.</i> <sup>b,c</sup>	Crom / PI
		<i>Acinetobacter spp.</i>	Crom
	- bacilitiol o l-cisteína (FosB)	<i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Enterococcus spp.</i>	Crom / PI
		<i>Bacillus subtilis</i> <sup>a</sup>	Crom
	- agua (FosX)	<i>Listeria monocytogenes</i> <sup>a</sup>	Crom
	Fosforilación del grupo fosfonato por quinasas y formación de		
- difosfatos y trifosfato (FomA y FomB)	<i>Streptomyces spp.</i>	Crom	
- monofosfato (FosC)	<i>Pseudomonas syringae</i>	Crom	
(FosC2)	<i>E. coli</i>	PI	

<sup>a</sup>Resistencia intrínseca; <sup>b</sup>Sensibilidad disminuida; <sup>c</sup>Algunas especies de Enterobacterales (*Serratia marcescens*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, o *Kluyvera georgiana*, etc) presentan genes cromosómicos homólogos de *fosA* y pueden presentar sensibilidad disminuida a la fosfomicina; Crom = cromosómica; PI= plasmídica.

permeabilidad de la pared, determina resistencia a fosfomicina, a tetraciclinas y cloranfenicol.

La diana de actuación puede verse alterada de manera natural o por mutaciones en los genes *murA* que afectan a la estructura de MurA, siendo incapaz la fosfomicina de actuar como sustrato. *Mycobacterium tuberculosis* presenta de forma natural MurA con un residuo apartado en vez de cisteína en la posición 117, siendo incapaz de interactuar con la fosfomicina y determinando su resistencia intrínseca. En *E. coli* se encuentra con relativa frecuencia mutantes con el centro activo de MurA alterado. Así mismo, la hiperproducción de MurA también provoca que no se inhiba suficientemente por la fosfomicina, siendo el microorganismo insensible a la acción de este antibiótico. En algunos microorganismos como *P. aeruginosa* o *Pseudomonas putida* se han descrito vías metabólicas independientes de MurA en la síntesis del peptidoglicano que justifica la baja sensibilidad que presentan estos microorganismos a la fosfomicina. En el caso de *Chlamydia trachomatis*, su insensibilidad a este antibiótico se debe a la escasa importancia de MurA en su ciclo biológico.

Sin embargo, el mecanismo que más ha atraído la atención por su mayor importancia epidemiológica es la inactivación de la fosfomicina. Se puede producir por metaloenzimas que destruyen de forma eficiente este antibiótico, bloqueando su acción inhibitoria sobre MurA. Se han descrito diferentes

metaloenzimas, entre ellas FosX y FosA. Inactivan fosfomicina mediante la apertura del anillo epóxido por incorporación de una molécula de agua o de glutatión, respectivamente. FosB, otra metaloenzima, lo hace mediante la adición de una molécula de cisteína o bacilitiol, esta última utilizada por microorganismos grampositivos (Firmicutes) que no producen glutatión. La incorporación de *fosA* en plásmidos y su transformación en *E. coli* eleva los valores de CMI de fosfomicina.

FosX se ha encontrado en microorganismos ambientales intrínsecamente resistentes a fosfomicina como *Mesorhizobium loti* o *Desulfotobacterium hafniense* y en patógenos como *Listeria monocytogenes*, *Brucella melitensis* o *Clostridium botulinum*. FosA y FosB tiene una homología aminoacídica aproximada entre sí del 48% y sus genes correspondientes se han encontrado en el caso de *fosB* en plásmidos y en el cromosoma de microorganismos grampositivos (*Staphylococcus epidermidis* y *Bacillus subtilis*) y ocasionalmente asociado a plásmidos en *Enterobacterales* [14]. El gen *fosA* y sus diferentes genes homólogos, como *fosA2*, *fosA3*, *fosA4*, *fosA5* o *fosA6* se han encontrado asociados a plásmidos en cepas de *E. coli* productoras de BLEE o en *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas. En el caso de *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia marcescens*, *Kluyvera spp.* y *P. aeruginosa* se han identificado variantes de *fosA* en el cromosoma con secuencias divergentes pero que conservan el centro activo que podrían

explicar la escasa actividad de fosfomicina (CMI modal 4-64 mg/L) en estas especies cuando se compara con la que presenta frente a *E. coli* (CMI modal 2-4 mg/L) (<https://mic.eucast.org/Eucast2/>). Se ha comprobado que la delección de estos genes cromosómicos reduce los valores de CMI de fosfomicina y que su introducción en un plásmido y transformación en *E. coli* confiere un aumento de los valores de CMI.

También se han descrito quinasas (FomA y FomB) que fosforilan el grupo fosfonato de fosfomicina con formación de compuestos difosfatos y trifosfatos que carecen de actividad antimicrobiana, y FosC, fosfotrasferasa homóloga de FomA, que en *Pseudomonas syringae*, otro microorganismo capaz de sintetizar fosfomicina, convierte fosfomicina en fosfomicina monofosfato, insensible a MurA.

## CONSECUENCIAS MICROBIOLÓGICAS Y SIGNIFICACIÓN CLÍNICA DEL DESARROLLO DE RESISTENCIA A FOSFOMICINA

A pesar de la gran facilidad con que es posible obtener mutantes resistentes a fosfomicina, su repercusión clínica no está suficientemente contrastada [13]. En algunos casos, los mecanismos de resistencia a fosfomicina reducen el *fitness* de la bacteria que los presenta y en muchas ocasiones su carácter virulento. Tal es el caso de algunos mutantes en genes que participan en su transporte, como *cysA* o *pstI*, que en *E. coli* reducen la formación de pilis que limitan su carácter virulento al reducir su capacidad de adherencia a las células epiteliales y materiales sintéticos como los catéteres. En los aislados con hiperproducción de MurA también se ha observado menor *fitness* y no se ha demostrado su relación con el fracaso clínico.

Un ejemplo que llama la atención es el de *L. monocytogenes*. *In vitro* se considera intrínsecamente resistente a fosfomicina, no solo por poseer FosX que inactiva fosfomicina, sino también por ser incapaz de transportar fosfomicina y acceder a su lugar de actuación. Sin embargo, *in vivo* expresa una permeasa (Hpt) de G6P que facilita la entrada de antibiótico y su sensibilidad.

En diferentes microorganismos, como *E. coli*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* o incluso *S. pneumoniae* se ha descrito el fenómeno de la heterorresistencia que denota la presencia de subpoblaciones bacterianas con menor sensibilidad a fosfomicina y que explicaría, en parte, la elevada frecuencia con la cual es posible seleccionar mutantes resistentes. En este sentido, hasta en un 40% de los aislados de *E. coli* es posible obtener mutantes resistentes con una frecuencia de  $10^{-5}$ - $10^{-7}$  que presentan CMIs de 32-64 mg/L y mutaciones puntuales en los genes *glpT* o *uhpT*. Su estabilidad *in vitro* en medios de laboratorio y orina es escasa y es posible recuperar en pases sucesivos los valores de CMI habituales (2-4 mg/L). Así mismo, en aproximadamente un 1% de los aislados es posible obtener mutantes resistentes por delecciones o inserciones en los genes *uhpT* y *uhpA* con una frecuencia inferior ( $10^{-7}$ - $10^{-11}$ ). Presentan CMIs elevadas (512-1.024 mg/L) y una estabilidad de crecimiento menor que las cepas isogénicas, pero mayor que los mutantes

*glpT* o *uhpT* [15-17]. Estos mutantes se obtienen con mayor frecuencia en cepas hipermutadoras. Sin embargo, en todos los casos, su menor *fitness*, ausencia de estabilidad y la menor posibilidad de selección en ambientes con pH ácido (por ejemplo, en la orina) explicaría también la escasa repercusión *in vivo* de la resistencia a fosfomicina observada *in vitro* [18]. También hay que destacar que las elevadas concentraciones que alcanza fosfomicina en algunos lugares, como la orina y su buena penetración en las biopelículas, minimizan la posible selección de estos mutantes. Este hecho ha sido demostrado en modelos *in vitro* en los que ha sido posible definir la ventana de selección, rango de concentraciones en las que se seleccionarían los mutantes resistentes. Esta ventana de selección podría evitarse con regímenes terapéuticos superiores a 4 g/8 h [19].

Un metaanálisis reciente estimó que el riesgo de selección de mutantes resistentes durante el tratamiento con fosfomicina en monoterapia en diferentes tipos de infecciones (urinaria, respiratoria, bacteriemia, del sistema nervioso central o de huesos) con implicación de distintos microorganismos era del 3.4% [20]. Los mutantes resistentes se obtuvieron con mayor frecuencia en *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Enterobacter* spp. y *P. aeruginosa*, pudiendo llegar al 20% en este último. Este hecho podría ser debido a su menor actividad intrínseca en comparación con la que presenta frente a *E. coli*, situación que facilitaría su entrada en ventana de selección y que justificaba la administración de fosfomicina en combinación con otros antimicrobianos en infecciones producidas por *P. aeruginosa*. Además, no se ha demostrado un coste asociado a la resistencia a fosfomicina en los aislados de *P. aeruginosa* resistentes a fosfomicina, situación que reforzaría la necesidad de terapia combinada en las infecciones producidas por este patógeno. Estas asociaciones reducirían la ventana de selección en la que se podrían seleccionar los mutantes resistentes [21].

Con independencia de los mecanismos reseñados con anterioridad, el que más importancia tiene desde el punto de vista epidemiológico y clínico es la inactivación enzimática asociada a genes *fos*. El más importante por su mayor dispersión, su carácter plasmídico y presencia en enterobacterias productoras de BLEE y carbapenemasas es *fosA3* [14]. Descrito inicialmente en 2010, se ha encontrado con mayor frecuencia en Asia tanto en aislados humanos como de origen animal, aunque estaría también presente en Europa [22,23]. Su frecuencia varía según la colección estudiada, pero puede estar presente en el 90% de los aislados resistentes a fosfomicina (entre el 3% y el 15% del total de aislados) que producen BLEE o carbapenemasas.

Recientemente se ha constatado el origen de gen *fosA3* en *Kluyvera georgina*. Su integración en plásmidos de diferentes grupos de incompatibilidad podría estar relacionado con traspones compuestos con la secuencia de inserción IS26 [24].

## ESTUDIO DE SENSIBILIDAD DE FOSFOMICINA EN EL LABORATORIO, PUNTOS DE CORTE CLÍNICOS Y EPIDEMIOLÓGICOS

El estudio *in vitro* de sensibilidad a fosfomicina siempre ha

supuesto un reto en el laboratorio ya que no existe un criterio unánime de cómo debe realizarse para todos los microorganismos implicados en las infecciones para los que tiene indicación y tampoco existen puntos de corte de interpretación para todos ellos (tabla 2). Esta situación podría cambiar debido al creciente interés por este antimicrobiano y la necesidad de su estudio frente a los microorganismos multirresistentes en los que la fosfomicina representa una opción terapéutica.

Hasta la fecha, el método de referencia recomendado tanto por el *European Antimicrobial Committee* (EUCAST) como por el *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI) para el estudio de la sensibilidad a la fosfomicina es la dilución en agar añadiendo al medio G6P (25 mg/L). La justificación de esta recomendación se debe a que fosfomicina utiliza dos tipos de transportadores para penetrar en la célula bacteriana. El primero, de expresión constitutiva, es el que emplea el glicerol 3-fosfato. Este transportador reduce su actividad en los medios de cultivo que contienen glucosa o fosfato, situación que se produce con el Mueller-Hinton, aumentando los valores de CMI de la fosfomicina en comparación con otros medios de cultivo. El segundo transportador, se induce por la presencia de G6P, por lo que cuando ésta se añade al medio, se produce una mejor entrada de fosfomicina en la bacteria y se reducen drásticamente sus valores de CMI. La adición de 25 mg/L de G6P mimetiza la situación fisiológica en la que se encuentran las bacterias en el lugar de la infección, por lo que los valores de CMI se acercan a los teóricamente reales. El aumento de la cantidad de G6P por encima de 25 mg/L en el medio tiene poco impacto en los valores de CMI.

Algunos microorganismos, como *P. aeruginosa*, carecen de transportador dependiente de G6P y solo presentan el que depende de glicerol 3-fosfato. En este caso, la adición de G6P al medio no modifica los valores de CMI [25]. Recientemente se ha de-

mostrado que la actividad de fosfomicina se incrementa (valores de CMI más bajos) en este microorganismo cuando se estudia en condiciones en las que se limita la disponibilidad de oxígeno. Esta situación se produce por una mejor expresión del transportador GlpT dependiente de glicerol 3-fosfato, situación que se asemejaría a la que acontece en condiciones de crecimiento en biopelículas y explicaría la buena actividad de fosfomicina frente a *P. aeruginosa* cuando crece en estas condiciones [26].

Aunque la dilución en caldo no se recomienda en el estudio de sensibilidad de la fosfomicina, algunos autores han demostrado en *P. aeruginosa* su equiparación con la dilución en agar [25]. En *Enterobacterales* la correlación de los diferentes métodos, incluyendo los sistemas automáticos, con la dilución en agar es muy baja por lo que tampoco se recomiendan en el estudio de sensibilidad [27,28].

En los métodos de difusión, la G6P se añade al disco o a las tiras en gradiente. La carga de los discos recomendada tanto por EUCAST como por el CLSI es de 200 µg con 50 µg de G6P. La lectura de los halos o elipses de inhibición suele ser problemática ya que hasta en el 41% de los aislados de *E. coli* pueden aparecer colonias en el interior del halo. EUCAST ha estandarizado su lectura para *E. coli*, proponiendo ignorar las colonias que se encuentren dentro de los halos considerados como sensibles y tiene pendiente ofrecer al menos recomendaciones para *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa*. Recientemente Lucas *et al.* [17] han estudiado mediante secuenciación de genomas completos las colonias que se observan en el interior de los halos, estimando que solo en el 0,8% de los casos estas colonias tienen halos de inhibición considerados como resistentes cuando se estudian nuevamente por difusión con discos. Estas colonias son mutantes que deben su carácter resistente a deleciones o mutaciones sin sentido en el gen *uhpT* asociado al transporte de la fosfomicina dependiente de la G6P.

**Tabla 2** Puntos de corte clínicos para fosfomicina en la interpretación de los resultados en el antibiograma

	EUCAST				CLSI			
	CMI (mg/L)		Diámetro halo (mm)		CMI (mg/L)		Diámetro halo (mm)	
	≤S	>R	≥S	<R	≤S	≥R	≥S	≤R
Enterobacterales	32 <sup>a</sup>	32 <sup>a</sup>	24 <sup>a</sup>	24 <sup>a</sup>	64 <sup>b</sup>	256 <sup>b</sup>	16 <sup>b</sup>	12 <sup>b</sup>
<i>Pseudomonas</i> spp.	128 <sup>c</sup>	128 <sup>c</sup>	12 <sup>c</sup>	12 <sup>c</sup>	-	-	-	-
<i>Enterococcus</i> spp.	-	-	-	-	64 <sup>d</sup>	256 <sup>d</sup>	16 <sup>d</sup>	12 <sup>d</sup>
<i>Staphylococcus</i> spp.	32 <sup>e</sup>	32 <sup>e</sup>	-	-	-	-	-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	EI	EI	EI	EI	-	-	-	-
<i>Haemophilus influenzae</i>	EI	EI	EI	EI	-	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	EI	EI	EI	EI	-	-	-	-

EUCAST: *European Antimicrobial Committee*; CLSI: *Clinical and Laboratory Standard Institute*; EI: evidencia insuficiente para establecer puntos de corte. (-): no definido.

<sup>a</sup>Uso IV y oral (ITU no complicada); <sup>b</sup>Aislados de *E. coli* del tracto urinario; <sup>c</sup>Punto de corte epidemiológico (ECOFF) uso en combinación con otros antimicrobianos; <sup>d</sup>Aislados de *E. faecalis* del tracto urinario; <sup>e</sup>Uso IV



Tabla 3 Actividad de fosfomicina en patógenos con diversos mecanismos de resistencia

Autor, año de publicación	Microorganismo, resistencia, (n)	% Sensibilidad a fosfomicina	Otros datos de sensibilidad	Metodología (Punto de corte)	Origen del aislado	País	Ref.
Flamm, R., 2018	<i>E.coli</i> (22)/ <i>K. pneumoniae</i> (21) BLEE	100%/100%	CMI <sub>50</sub> , CMI <sub>90</sub> = 0,5, 2 mg/L/ CMI <sub>50</sub> , CMI <sub>90</sub> = 4, 8 mg/L	Dilución en agar (CLSI)	Estudio SENTRY	EEUU	(30)
	<i>E.coli</i> (11)/ <i>K. pneumoniae</i> (12) carbapenemasa	81,8%/91,7%	CMI <sub>50</sub> , CMI <sub>90</sub> = 8,64 mg/L / CMI <sub>50</sub> , CMI <sub>90</sub> = 1,>256 mg/L				
Falagas, M., 2009	Enterobacterias MDR/XDR (152)	92%		Tiras en gradiente (CLSI)	Aislados clínicos	Grecia	(31)
Bouhom, H., 2018	<i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> BLEE (100)	98%		Dilución en agar (EUCAST)	Aislados urinarios-bacteriemia	Francia	(35)
Bi, W., 2017	<i>E.coli</i> BLEE (356)	92,7%	CMI <sub>50</sub> , CMI <sub>90</sub> = 0,5,32 mg/L	Dilución en agar (CLSI)	Aislados urinarios	China	(34)
Mezzatesta ML., 2017	<i>E.coli</i> BLEE (24)/ <i>K. pneumoniae</i> KPC (53)	100%/78%	CMI <sub>50</sub> , CMI <sub>90</sub> = 0,5,1 mg/L / CMI <sub>50</sub> , CMI <sub>90</sub> = 32,128 mg/L	Dilución en agar/microdilución/ dilución en gradiente (CLSI)	Aislados urinarios	Italia	(32)
	<i>P. aeruginosa</i> CAZ-AVI no sensible (21)	85,7%	CMI <sub>50</sub> , CMI <sub>90</sub> = 32,128 mg/L				
Flamm, R., 2018	<i>P.aeruginosa</i> MER no sensible (20)	75%	CMI <sub>50</sub> , CMI <sub>90</sub> = 32,128 mg/L	Dilución en agar (CLSI)	Estudio SENTRY	EEUU	(30)
	<i>P. aeruginosa</i> MDR + no MDR (64)	61%	CMI <sub>50</sub> , CMI <sub>90</sub> = 64,512 mg/L				
Walsh C., 2015	<i>P. aeruginosa</i> MDR + no MDR (64)	61%	CMI <sub>50</sub> , CMI <sub>90</sub> = 64,512 mg/L	Dilución en agar/microdilución (CLSI)	Fibrosis quística, bacteriemia	Australia	(10)
Perdigao-Neto LV., 2014	<i>P. aeruginosa</i> MDR (15)	7%		Dilución en agar/microdilución (CLSI)	Aislados urinarios, bacteriemia respiratorios	Brasil	(38)
Flamm, R., 2018	SARM (101)	100%	CMI <sub>50</sub> , CMI <sub>90</sub> = 4,8 mg/L	Dilución en agar (CLSI)	Estudio SENTRY	EEUU	(30)
Falagas M., 2010	SARM (130)	99,2%		Difusión en disco (200) (CLSI)	NO urinario	Grecia	(40)
Lu CL., 2011	SARM (100)	89%		Dilución en agar (NE)	Aislados clínicos	Taiwan	(41)
López Díaz MC., 2017	SARM (55)	43,6%	CMI <sub>50</sub> , CMI <sub>90</sub> = 128,512 mg/L	Dilución en agar (NE)	Aislados clínicos	España	(42)
Wu D., 2018	SARM (293)	46,8%		Dilución en agar (CLSI)	Aislados urinarios, bacteriemia respiratorios	China	(43)
Guo Y., 2017	ERV (890)	85,1% sensible 13,4 % intermedio		Dilución en agar (CLSI)	Controles rectales	EEUU	(44)
Tang HJ., 2013	<i>E. faecium</i> RV (19)	30%	CMI <sub>50</sub> , CMI <sub>90</sub> = 128 mg/L	Dilución en agar (CLSI)	Aislados clínicos	Taiwan	(45)
	<i>E. faecalis</i> RV (21)	44%					

CAZ-AVI= Ceftazidima/avibactam, MER= Meropenem, MDR= multi-resistente, XDR: extremadamente resistentes, SARM: *S. aureus* resistente a meticilina, ERV: enterococo resistente a vancomicina, RV: resistente a vancomicina, NE=no especificado

Para facilitar la lectura de los halos o elipses de inhibición se ha propuesto en *P. aeruginosa* reducir el inóculo habitual desde  $1,5 \times 10^8$  a  $1,5 \times 10^6$  UFC/ml [29]. Con ello se consigue disminuir la presencia de colonias dentro del halo, una mejor correlación con los valores de CMI por dilución en agar y adscribir su pertenencia o no a la población salvaje [CMI inferior o igual al punto de corte epidemiológico (ECOFF), 128 mg/L]. Esta aproximación debería también explorarse en *Enterobacteriales*.

## NUEVOS DATOS EN LOS ESTUDIOS DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA

La revalorización de fosfomicina en los últimos años se de-

be a la escasez de nuevas opciones antibióticas y al aumento de la incidencia de infecciones por microorganismos multirresistentes. El hecho de que el mecanismo de acción de fosfomicina sea único, hace que no existan resistencias cruzadas con otros antibióticos y por todo ello fosfomicina se sitúa como una de las pocas opciones terapéuticas en infecciones por microorganismos multirresistentes. A continuación, se recogen los últimos estudios que detallan la actividad de fosfomicina en patógenos con diferentes mecanismos de resistencia (tabla 3):

**Enterobacterias con  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido y carbapenemasas.** Según diversos estudios de sensibilidad *in vitro*, fosfomicina mantiene su actividad frente a las

enterobacterias productoras de BLEE o carbapenemasas. Se notifican datos de sensibilidad a fosfomicina de más del 80% frente a estos microorganismos. En una publicación reciente, en la que se detalla la actividad de fosfomicina en aislados clínicos de Estados Unidos, se observó un 100% (43/43 aislados) de sensibilidad a la fosfomicina en *E. coli* y *K. pneumoniae* productor de BLEE (MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub> = 0,5/2 mg/L y MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub> = 4/8 mg/L, respectivamente). Respecto a las EPC, se obtuvo un porcentaje de sensibilidad del 81,8% (MIC<sub>50/90</sub> = 1/>256mg/L) para aislados de *E. coli* y del 91,7% (MIC<sub>50/90</sub> = 8/64 mg/L) para *K. pneumoniae* [30]. En las EPC procedentes de Grecia se observan sensibilidades del 94,9% [31] y del 78% en *K. pneumoniae* con KPC de Italia [32].

En una revisión realizada por Falagas *et al.* [33] donde se recopilan datos de sensibilidad *in vitro* y clínicos de infecciones por enterobacterias, se calculó un porcentaje de sensibilidad del 96,8% y del 81,3% para *E. coli* y *K. pneumoniae* productores de BLEE, respectivamente. En China se halló un porcentaje de sensibilidad del 92,7% en *E. coli* con BLEE procedentes de infecciones urinarias. La resistencia en la mayoría de aislados estaba asociada por un plásmido que portaba el gen *bla*<sub>fosA</sub> y *bla*<sub>CTX-M</sub> [34].

En un estudio en el que comparan la sensibilidad antibiótica de fosfomicina con otros antibióticos no carbapenémicos en enterobacterias con BLEE, el 98% de los aislados fueron sensibles a fosfomicina, mientras que el 100% lo fueron a ceftazidima-avibactam, el 97% a amikacina y piperacilina-tazobactam y el 96% a nitrofurantoína [35].

Aunque todos estos datos demuestran altos porcentajes de sensibilidad en este tipo de microorganismos, en España se notificó un incremento de aislados resistentes a fosfomicina durante un periodo de 4 años, atribuyéndolo al aumento del uso de este antibiótico en infección del tracto urinario de la comunidad y a la dispersión de clones epidémicos [36]. Así mismo, estudios de PD realizados mediante curvas de muerte y ensayos de emergencia de resistencia a fosfomicina en enterobacterias con BLEE y/o carbapenemasas, observaron actividad bactericida de fosfomicina, pero también un recrecimiento de subpoblaciones resistentes que varió según la especie y el aislado [37].

***Pseudomonas aeruginosa* multirresistente.** La actividad de fosfomicina frente a *P. aeruginosa* es controvertida debido a la alta frecuencia de aparición de mutantes resistentes. Existe una gran heterogeneidad en los resultados de sensibilidad *in vitro*, muchas veces debido al método empleado para su determinación. En un estudio realizado en Australia, el 61% de los aislados de *P. aeruginosa* multirresistentes y no multirresistentes fueron sensibles a fosfomicina (considerando el punto de corte CMI  $\leq$ 64mg/L), con una distribución de CMIs similar en ambos grupos [10]. En aislados de *P. aeruginosa* no sensibles a ceftazidima-avibactam y no sensibles a meropenem, se observa un 85,7% y 75% de sensibilidad a fosfomicina, respectivamente [30]. Porcentajes mucho más bajos de sensibilidad (7%) se observaron por Perdigo-Neto *et al.* en Brasil [38].

En una revisión sobre la actividad de fosfomicina frente a bacilos gramnegativos no fermentadores, se recogieron 19 estudios en los que se determinó una tasa de sensibilidad en *P. aeruginosa* multirresistente del 30,2%, con una gran variedad de métodos empleados y distintos porcentajes de media de sensibilidad para cada uno de ellos [39]: microdilución, 91,1% (media 58.1%, rango 0%-100%, DE $\pm$ 45%); agar, 90% (media 70%, rango 0%-100%, DE $\pm$ 41%); difusión en disco, 56,3% (media 51%, rango 0%-100%, DE $\pm$ 35%) y difusión en gradiente, 11,1% (media 28.6%, rango 0%-93.3%, DE $\pm$ 35%). Siendo el método de referencia para la determinación de sensibilidad la dilución en agar, nuestro grupo ha propuesto un procedimiento alternativo para la realización de los métodos de difusión, en el que se diluye 100 veces el inóculo 0,5 MacFarland que mejora considerablemente la concordancia con el método de referencia [29].

***Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y *Enterococcus* resistente a vancomicina.** Mientras que algunos estudios observan una buena actividad de fosfomicina tanto en *S. aureus* sensible a meticilina (SASM) como en SARM, con porcentajes de sensibilidad de hasta el 99,2%, [30,40,41] otros alertan con cifras de menos del 50% de sensibilidad en SARM [42], con diferencias según el linaje clonal [43]. Así mismo, los datos sobre la actividad de fosfomicina frente a enterococo varían según el estudio. Así, se describe más del 80% de *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina con sensibilidad conservada a fosfomicina [44], frente al 30% comunicado en otros estudios [45].

## ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA EN BIOPELÍCULAS

Fosfomicina ha demostrado tener una alta tasa de penetración en biopelículas maduras de *P. aeruginosa* [46]. Así mismo, el ambiente anaeróbico presente en el interior de estas estructuras, favorece la expresión del transportador de fosfomicina GIpT, por lo que una mayor cantidad de antibiótico penetra al interior de la bacteria [26]. Hay varios estudios *in vitro* y en modelos animales en los que se demuestra que fosfomicina asociada a diferentes antibióticos tiene la capacidad de erradicar o reducir las biopelículas de las bacterias grampositivas y gramnegativas. Ejemplo de ello sería los trabajos publicados con biopelículas de SARM en los que se obtiene buenos resultados con fosfomicina asociada a vancomicina [47], rifampicina [48], linezolid, minociclina, vancomicina o teicoplanina [49,50] o con *Enterococcus faecalis* en monoterapia y en combinación con gentamicina [8]. Así mismo, se ha demostrado sinergia frente a biopelículas de *P. aeruginosa* en combinación con tobramicina, potenciando la penetración de este antibiótico al interior celular [51–53].

## ACTIVIDAD DE FOSFOMICINA EN COMBINACIÓN CON OTROS ANTIMICROBIANOS

Uno de los principales problemas que presenta fosfomi-

cina es la alta frecuencia de aparición de mutantes resistentes durante el tratamiento. Por ello y por la ausencia de resistencias cruzadas y antagonismos con otras familias, hace que su administración sea en la mayoría de los casos en combinación con otros antimicrobianos. En este aspecto, existen numerosos estudios *in vitro* que intentan elucidar el efecto de las combinaciones, tanto frente a bacilos gramnegativos como frente a microorganismos grampositivos.

#### Combinaciones frente a bacterias gramnegativas.

Fosfomicina es una de las pocas alternativas, junto con los aminoglucósidos y colistina, que presenta CMI dentro del rango de sensibilidad en EPC. Por ello, se ha estudiado la actividad de las asociaciones entre estos antibióticos. En un modelo de PK-PD se determinó el efecto de la asociación de fosfomicina con amikacina o colistina frente a *K. pneumoniae* productora de KPC-2. Se observó que la tasa de resistencia fue menor cuando se utilizó la asociación de fosfomicina-colistina, que cuando se utilizó colistina en monoterapia [54]. Este efecto sinérgico parece ser debido a que colistina facilita la entrada de fosfomicina al interior de la bacteria y de este modo aumenta su concentración en el sitio activo. El efecto de la asociación de fosfomicina-colistina, parece ser dependiente del tipo de cepa estudiada. Así, en cepas colistina-heterorresistentes o colistina-resistentes, no se potenció el efecto bactericida con la combinación [55,56]. También se demostró sinergia *in vitro* con imipenem, ertapenem y tigeciclina en modelos de curvas de muerte y tablero de ajedrez en *K. pneumoniae* productora de KPC [57].

Una asociación interesante es con los derivados del ácido fosfonofórmico (fosfocarnet), fármacos antivirales que además poseen una actividad como inhibidores de la enzima FosA que hidroliza la fosfomicina en los microorganismos gramnegativos. De esta forma, se potencia la actividad de fosfomicina en bacterias como *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, o *Enterobacter cloacae* que poseen codificada esta enzima en su cromosoma [58].

La combinación de temocilina con fosfomicina también ha demostrado ser sinérgica *in vitro* e *in vivo*, además de prevenir la aparición de mutantes resistentes, frente a *E. coli* con carbapenemasas de tipo KPC e incluso OXA-48, que confieren resistencia a temocilina [59].

En *P. aeruginosa* existe una vía alternativa unida al reciclaje del peptidoglicano, que evita su síntesis *de novo*. Este hecho podría explicar la menor actividad de fosfomicina en este microorganismo. Los inhibidores del reciclaje del peptidoglicano han demostrado incrementar su sensibilidad [60].

Respecto a los antibióticos betalactámicos, ceftolozano-tazobactam en combinación con fosfomicina ha demostrado sinergia *in vitro*, lo que podría tener utilidad en el tratamiento de infecciones causadas por *P. aeruginosa* multirresistente [61]. Así mismo, la asociación con meropenem en modelo de infección de fibra hueca (*hollow-fiber*) potenció el efecto bactericida y evitó la aparición de mutantes resistentes [62].

**Combinaciones frente a bacterias grampositivas.** La asociación de fosfomicina y daptomicina es una de las estrategias más estudiadas frente a los grampositivos. En una revisión reciente en la que se reunieron casos de infección por microorganismos grampositivos tratados con distintas combinaciones con fosfomicina y resultados de curvas de muerte en SARM y SASM, la asociación con daptomicina demostró ser la más efectiva [63]. En un modelo animal de endocarditis por SARM, se demostró la acción bactericida y sinérgica de esta asociación, donde además se mejoró la proporción de vegetaciones estériles y el inóculo bacteriano en las vegetaciones [64]. Así mismo, en ERV, daptomicina asociado con fosfomicina demostró sinergia *in vitro* y en un modelo de PK-PD [65]. En SARM con sensibilidad intermedia a los glicopéptidos, la asociación con imipenem o con ceftriaxona en modelo animal y en curvas de muerte resultó sinérgica [66]. Frente a SARM, también se ha demostrado sinergia *in vitro* con los métodos de curvas de muerte bacteriana o tablero de ajedrez de fosfomicina con linezolid [67] rifampicina tigeciclina [68] ácido fusídico [69] o quinupristina-dalfopristina [70].

## CONCLUSIONES

El aumento en el conocimiento microbiológico y uso clínico de fosfomicina ha aumentado en los últimos años. Sin embargo, aún quedan algunos aspectos por definir como son los relacionados con su estudio de sensibilidad *in vitro* o los parámetros PK-PD que mejor predicen su eficacia clínica. A pesar de ello y de la introducción de nuevos antimicrobianos con actividad frente a microorganismos multirresistentes, su uso tanto empírico como dirigido, sola o en asociación con otros antimicrobianos, se ha incrementado, siendo imprescindible hoy en día necesario disponer de la fosfomicina en los países con mayores tasas de resistencia, tal y como lo avalan los estudios de vigilancia de la resistencia y las guías de uso clínico.

## CONFLICTOS DE INTERÉS

RC ha participado en actividades de formación organizadas por ERN, Pfizer y MDS.

## AGRADECIMIENTOS

MDA está financiada por el iABC (referencia 115721-2) de la *Innovative Medicines Initiative* de la Comisión Europea.

## REFERENCIAS

1. Falagas ME, Vouloumanou EK, Samonis G, Vardakas KZ. Fosfomicin. *Clin Microbiol Rev* 2016;29:321–47. doi:10.1128/CMR.00068-15.
2. Candel FJ, Cantón R. Current approach to fosfomicin: From bench to bedside. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2018. doi:10.1016/j.ijggc.2010.08.005.
3. Falagas ME, Giannopoulou KP, Kokolakis GN, Rafailidis PI. Fosfomicin: use beyond urinary tract and gastrointestinal infections. *Clin Infect Dis* 2008;46:1069–77. doi:10.1086/527442.



4. Roussos N, Karageorgopoulos DE, Samonis G, Falagas ME. Clinical significance of the pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of fosfomicin for the treatment of patients with systemic infections. *Int J Antimicrob Agents* 2009;34:506–15. doi:10.1016/j.ijantimicag.2009.08.013.
5. Dijkmans AC, Zacarias NVO, Burggraaf J, Mouton JW, Wilms E, van Nieuwkoop C, et al. Fosfomicin: pharmacological, clinical and future perspectives. *Antibiotics* 2017;6:24. doi:10.3390/antibiotics6040024.
6. Lepak AJ, Zhao M, VanScoy B, Taylor DS, Ellis-Grosse E, Ambrose PG, et al. In Vivo pharmacokinetics and pharmacodynamics of ZTI-01 (fosfomicin for injection) in the neutropenic murine thigh infection model against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2017;61:1–11. doi:10.1128/AAC.00476-17.
7. Docobo-Pérez F, Drusano GL, Johnson A, Goodwin J, Whalley S, Ramos-Martín V, et al. Pharmacodynamics of fosfomicin: Insights into clinical use for antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59:5602–10. doi:10.1128/AAC.00752-15.
8. Oliva A, Furustrand Taffin U, Maiolo EM, Jeddari S, Bétrisey B, Trampuza A. Activities of fosfomicin and rifampin on planktonic and adherent *Enterococcus faecalis* strains in an experimental foreign-body infection model. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:1284–93. doi:10.1128/AAC.02583-12.
9. Mazzei T, Cassetta MI, Fallani S, Arrigucci S, Novelli A. Pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects of antimicrobial agents for the treatment of uncomplicated urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents* 2006;28:35–41. doi:10.1016/j.ijantimicag.2006.05.019.
10. Walsh CC, McIntosh MP, Peleg AY, Kirkpatrick CM, Bergen PJ. *In vitro* pharmacodynamics of fosfomicin against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 2015;70:3042–50. doi:10.1093/jac/dkv221.
11. Louie A, Maynard M, Duncanson B, Nole J, Vicchiarelli M, Drusano GL. Determination of the dynamically linked indices of fosfomicin for *Pseudomonas aeruginosa* in the hollow fiber infection model. *Antimicrob Agents Chemother* 2018; 62:1–9. doi:10.1128/AAC.02627-17.
12. Castañeda-García A, Blázquez J, Rodríguez-Rojas A. Molecular mechanisms and clinical impact of acquired and intrinsic fosfomicin resistance. *Antibiotics* 2013; 2:217–36. doi:10.3390/antibiotics2020217.
13. Falagas ME, Athanasaki F, Voulgaris GL, Triarides NA, Vardakas KZ. Resistance to fosfomicin: mechanisms, frequency and clinical consequences. *Int J Antimicrob Agents* 2018. doi:10.1103/PhysRevB.83.075123.
14. Yang TY, Lu PL, Tseng SP. Update on fosfomicin-modified genes in Enterobacteriaceae. *J Microbiol Immunol Infect* 2017. doi:10.1016/j.jmii.2017.10.006.
15. Nilsson AI, Otto B, Aspevall O, Kahlmeter G, Andersson DI. Biological costs and mechanisms of fosfomicin resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:2850–8. doi:10.1128/AAC.47.9.2850.
16. Ballester-Téllez M, Docobo-Pérez F, Portillo-Calderón I, Rodríguez-Martínez JM, Racero L, Ramos-Guelfo MS, et al. Molecular insights into fosfomicin resistance in *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother* 2017;72: 1303–9. doi:10.1093/jac/dkw573.
17. Lucas AE, Ito R, Mustapha MM, McElheny CL, Mettus RT, Bowler SL, et al. Frequency and mechanisms of spontaneous fosfomicin nonsusceptibility observed upon disk diffusion testing of *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 2018;56:1–7. doi:10.1128/JCM.01368-17.
18. Karageorgopoulos DE, Wang R, Yu X-H, 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. doi:10.1093/jac/dkr466.
19. VanScoy B, McCauley J, Bhavnani SM, Ellis-Grosse EJ, Ambrose PG. Relationship between fosfomicin exposure and amplification of *Escherichia coli* subpopulations with reduced susceptibility in a hollow-fiber infection model. *Antimicrob Agents Chemother* 2016;60:5141–5. doi:10.1128/AAC.00355-16.
20. Grabein B, Graninger W, Rodríguez Baño J, Dinh A, Liesenfeld DB. Intravenous fosfomicin—back to the future. Systematic review and meta-analysis of the clinical literature. *Clin Microbiol Infect* 2017;23:363–72. doi:10.1016/j.cmi.2016.12.005.
21. Díez-Aguilar M, Morosini MI, Tedim AP, Rodríguez I, Akta Z, Cantón R. Antimicrobial activity of fosfomicin-tobramycin combination against *Pseudomonas aeruginosa* isolates assessed by time-kill assays and mutant prevention concentrations. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59. doi:10.1128/AAC.00822-15.
22. Chen J, Wang D, Ding Y, Zhang L, Li X. Molecular epidemiology of plasmid-mediated fosfomicin resistance gene determinants in *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolates in China. *Microb Drug Resist* 2018;mdr.2018.0137. doi:10.1089/mdr.2018.0137.
23. Benzerara Y, Gallah S, Hommeril B, Genel N, Decré D, Rottman M, et al. Emergence of plasmid-mediated fosfomicin-resistance genes among *Escherichia coli* isolates, France. *Emerg Infect Dis* 2017;23:1564–7. doi:10.3201/eid2309.170560.
24. Ito R, Pacey MP, Mettus RT, Sluis-Cremer N, Doi Y. Origin of the plasmid-mediated fosfomicin resistance gene fosA3. *J Antimicrob Chemother* 2018;73:373–6. doi:10.1093/jac/dkx389.
25. Díez-Aguilar M, Morosini M-I, 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. doi:10.1128/AAC.00589-13.
26. Hirakawa H, Kurabayashi K, Tanimoto K, Tomita H. Oxygen limitation enhances the antimicrobial activity of fosfomicin in *Pseudomonas aeruginosa* following overexpression of glpT Which encodes glycerol-3-phosphate/fosfomicin symporter. *Front Microbiol* 2018;9:1950. doi:10.3389/fmicb.2018.01950.
27. Camarlinghi G, Parisio EM, Antonelli A, Nardone M, Coppi M, Giani T, et al. Discrepancies in fosfomicin susceptibility testing of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* with various commercial methods. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2018;2018–20. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2018.07.014.

28. van Mens SP, ten Doesschate T, Kluytmans-van den Bergh MFO, Mouton JW, Rossen JWA, Verhulst C, et al. Fosfomicin Etest for Enterobacteriaceae: Interobserver and interlaboratory agreement. *Int J Antimicrob Agents* 2018;52:678–81. doi:10.1016/j.ijantimicag.2018.06.014.
29. Díez-Aguilar M, Martínez-García L, Cantón R, Morosini MI. Is a new standard needed for diffusion methods for in vitro susceptibility testing of fosfomicin against *Pseudomonas aeruginosa*? *Antimicrob Agents Chemother* 2016;60. doi:10.1128/AAC.02237-15.
30. Flamm RK, Rhomberg PR, Watters A, Sweeney K, Ellis-Grosse EJ, Shortridge D. Activity of fosfomicin when tested against US contemporary bacterial isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2018. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2018.08.010.
31. Falagas ME, Kastoris AC, Karageorgopoulos DE, Rafailidis PI. Fosfomicin for the treatment of infections caused by multidrug-resistant non-fermenting Gram-negative bacilli: a systematic review of microbiological, animal and clinical studies. *Int J Antimicrob Agents* 2009;34:111–20. doi:10.1016/j.ijantimicag.2009.03.009.
32. Mezzatesta ML, La Rosa G, Maugeri G, Zingali T, Caio C, Novelli A, et al. In vitro activity of fosfomicin trometamol and other oral antibiotics against multidrug-resistant uropathogens. *Int J Antimicrob Agents* 2017;49:763–6. doi:10.1016/j.ijantimicag.2017.01.020.
33. 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. doi:10.1016/S1473-3099(09)70325-1.
34. Bi W, Li B, Song J, Hong Y, Zhang X, Liu H, et al. Antimicrobial susceptibility and mechanisms of fosfomicin resistance in extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* strains from urinary tract infections in Wenzhou, China. *Int J Antimicrob Agents* 2017;50:29–34. doi:10.1016/j.ijantimicag.2017.02.010.
35. Bouxom H, Fournier D, Bouiller K, Hocquet D, Bertrand X. Which non-carbapenem antibiotics are active against extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae? *Int J Antimicrob Agents* 2018;52:100–3. doi:10.1016/j.ijantimicag.2018.03.014.
36. 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. doi:10.1093/jac/dkq346.
37. Fransen F, Hermans K, Melchers MJB, Lagarde CCM, Meletiadis J, Mouton JW. Pharmacodynamics of fosfomicin against ESBL- and/or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother* 2017;72:3374–81. doi:10.1093/jac/dkx328.
38. Perdigoão-Neto L V., Oliveira MS, Rizek CF, Carrilho CMDM, Costa SF, Levin AS. Susceptibility of multiresistant gram-negative bacteria to fosfomicin and performance of different susceptibility testing methods. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:1763–7. doi:10.1128/AAC.02048-13.
39. Bilal H, Peleg AY, McIntosh MP, Styles IK, Hirsch EB, Landersdorfer CB, et al. comment on: Elucidation of the pharmacokinetic/pharmacodynamic determinants of fosfomicin activity against *Pseudomonas aeruginosa* using a dynamic in vitro model. *J Antimicrob Chemother* 2018;73:1570–8. doi:10.1093/jac/dky045.
40. Falagas ME, Maraki S, Karageorgopoulos DE, Kastoris AC, Kapaskelis A, Samonis G. Antimicrobial susceptibility of Gram-positive non-urinary isolates to fosfomicin. *Int J Antimicrob Agents* 2010;35:497–9. doi:10.1016/j.ijantimicag.2010.01.010.
41. Lu C-L, Liu C-Y, Huang Y-T, Liao C-H, Teng L-J, 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. doi:10.1128/AAC.00349-11.
42. López Díaz MC, Ríos E, Rodríguez-Avial I, Simaluiza RJ, Picazo JJ, Culebras E. In-vitro activity of several antimicrobial agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates expressing aminoglycoside-modifying enzymes: potency of plazomicin alone and in combination with other agents. *Int J Antimicrob Agents* 2017;50:191–6. doi:10.1016/j.ijantimicag.2017.01.039.
43. Wu D, Chen Y, Sun L, Qu T, Wang H, Yu Y. Prevalence of fosfomicin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients in a university hospital in China, 2013–2015. *Jpn J Infect Dis* 2018;312–4. doi:10.7883/yoken.JIID.2018.013.
44. Guo Y, Tomich AD, McElheny CL, Cooper VS, Tait-Kamradt A, Wang M, et al. High-level fosfomicin resistance in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Emerg Infect Dis* 2017;23:1902–4. doi:10.3201/eid2311.171130.
45. Tang HJ, Chen CC, Zhang CC, Su BA, Li CM, Weng TC, et al. In vitro efficacy of fosfomicin-based combinations against clinical vancomycin-resistant *Enterococcus* isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013;77:254–7. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2013.07.012.
46. Rodríguez-Martínez J, Ballesta S, Pascual A. Activity and penetration of fosfomicin, ciprofloxacin, amoxicillin/clavulanic acid and co-trimoxazole in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. *J ...* 1992;30:366–8.
47. Shi J, Mao NF, Wang L, Zhang HB, Chen Q, Liu H, et al. Efficacy of combined vancomycin and fosfomicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in biofilms in vivo. *PLoS One* 2014;9:1–14. doi:10.1371/journal.pone.0113133.
48. Mihailescu R, Tabin UF, Corvec S, Oliva A, Betrisey B, Borens O, et al. High activity of fosfomicin and rifampin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm in vitro and in an experimental foreign-body infection model. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:2547–53. doi:10.1128/AAC.02420-12.
49. Tang HJ, Chen CC, Cheng KC, Toh HS, Su BA, Chiang SR, et al. In vitro efficacy of fosfomicin-containing regimens against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in biofilms. *J Antimicrob Chemother* 2012;67:944–50. doi:10.1093/jac/dkr535.
50. Chai D, Liu X, Wang R, Bai Y, Cai Y. Efficacy of linezolid and fosfomicin in catheter-related biofilm infection caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biomed Res Int* 2016;2016. doi:10.1155/2016/6413982.
51. Díez-Aguilar M, Morosini MI, Köksal E, Oliver A, Ekkelenkamp M, Cantón R. Use of Calgary and microfluidic BioFlux systems to test the activity of fosfomicin and tobramycin alone and in combina-

- tion against cystic fibrosis *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2018;62. doi:10.1128/AAC.01650-17.
52. Anderson GG, Kenney TF, Macleod DL, Henig NR, O'Toole G a. Eradication of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms on cultured airway cells by a fosfomicin/tobramycin antibiotic combination. *Pathog Dis* 2013;67:39–45. doi:10.1111/2049-632X.12015.
53. Field TR, White A, Elborn JS, Tunney MM. Effect of oxygen limitation on the in vitro antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* grown planktonically and as biofilms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005;24:677–87. doi:10.1007/s10096-005-0031-9.
54. Yu W, Zhou K, Guo L, Ji J, Niu T, Xiao T, et al. In vitro pharmacokinetics/pharmacodynamics evaluation of fosfomicin combined with amikacin or colistin against KPC2-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Front Cell Infect Microbiol* 2017;7. doi:10.3389/fcimb.2017.00246.
55. Wang J, He JT, Bai Y, Wang R, Cai Y. Synergistic activity of colistin/fosfomicin combination against carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in an in vitro pharmacokinetic/pharmacodynamic model. *Biomed Res Int* 2018;2018. doi:10.1155/2018/5720417.
56. Zhao M, Bulman ZP, Lenhard JR, Satlin MJ, Kreiswirth BN, Walsh TJ, et al. Pharmacodynamics of colistin and fosfomicin: A "treasure trove" combination combats KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother* 2017;72:1985–90. doi:10.1093/jac/dkx070.
57. Yu W, Shen P, Bao Z, Zhou K, Zheng B, Ji J, et al. In vitro antibacterial activity of fosfomicin combined with other antimicrobials against KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Antimicrob Agents* 2017;50:237–41. doi:10.1016/j.ijantimicag.2017.03.011.
58. Ito R, Tomich AD, McElheny CL, Mettus RT, Sluis-Cremer N, Doi Y. Inhibition of fosfomicin resistance protein fosa by phosphonofornate (foscarnet) in multidrug-resistant gram-negative pathogens Ryota. *Antimicrob Agents Chemother* 2017;61. doi:10.1128/AAC.01424-17.
59. Berleur M, Guérin F, Massias L, Chau F, Poujade J, Cattoir V, et al. Activity of fosfomicin alone or combined with temocillin in vitro and in a murine model of peritonitis due to KPC-3- or OXA-48-producing *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother* 2018. doi:10.1093/jac/dky283.
60. Hamou-Segarra M, Zamorano L, Vadlamani G, Chu M, Sanchez-Diener I, Juan C, et al. Synergistic activity of fosfomicin,  $\beta$ -lactams and peptidoglycan recycling inhibition against *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 2017;72:448–54. doi:10.1093/jac/dkw456.
61. Monogue ML, Nicolau DP. Antibacterial activity of ceftolozane/tazobactam alone and in combination with other antimicrobial agents against MDR *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 2018;73:942–52. doi:10.1093/jac/dkx483.
62. Drusano GL, Neely M, Yamada W, Duncanson B, Brown D, Maynard M, et al. The combination of fosfomicin plus meropenem is synergistic for *Pseudomonas aeruginosa* PA01 in a Hollow Fiber Infection Model (HFIM). *Antimicrob Agents Chemother* 2018;70:60:1–32. doi:10.1128/AAC.00183-18.
63. Coronado-Álvarez NM, Parra D, Parra-Ruiz J. Clinical efficacy of fosfomicin combinations against a variety of gram-positive cocci. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2018. doi:10.1016/j.eimc.2018.05.009.
64. García-De-La-Mària C, Gasch O, García-Gonzalez J, Soy D, Shaw E, Ambrosioni J. The combination of daptomycin and fosfomicin has of experimental endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 2018;62:1–8.
65. Snyder ADH, Werth BJ, Nonejuie P, McRoberts JP, Pogliano J, Sakoulas G, et al. Fosfomicin enhances the activity of Daptomycin against Vancomycin-Resistant enterococci in an in Vitro pharmacokinetic-pharmacodynamic model. *Antimicrob Agents Chemother* 2016;60:5716–23. doi:10.1128/AAC.00687-16.
66. Del Río A, García-de-la-Mària C, Entenza JM, Gasch O, Armero Y, Soy D, et al. Fosfomicin plus  $\beta$ -lactams as synergistic bactericidal combinations for experimental endocarditis due to methicillin-resistant and glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2016;60:478–86. doi:10.1128/AAC.02139-15.
67. Xu-hong Y, Falagas ME, Dong W, Karageorgopoulos DE, De-feng L, Rui W. *In vitro* activity of fosfomicin in combination with linezolid against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antibiot (Tokyo)* 2014;67:369–71. doi:10.1038/ja.2014.5.
68. Simonetti O, Morroni G, Ghiselli R, Orlando F, Brenciani A, Xhuvellaj L, et al. *In vitro* and in vivo activity of fosfomicin alone and in combination with rifampin and tigecycline against Gram-positive cocci isolated from surgical wound infections. *J Med Microbiol* 2018;67:139–43. doi:10.1099/jmm.0.000649.
69. Yu X-H, Song X-J, Cai Y, Liang B-B, Lin D-F, Wang R. *In vitro* activity of two old antibiotics against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antibiot (Tokyo)* 2010;63:657–9. doi:10.1038/jja.2010.105.
70. Duez J-M, Adochitei A, Péchinot A, Siebor E, Sixt N, Neuwirth C. *In vitro* combinations of five intravenous antibiotics with dalfo-pristin-quinupristin against *Staphylococcus aureus* in a 3-Dimensional Model. *J Chemother* 2013;20:684–9. doi:10.1179/joc.2008.20.6.684.