

CLSI ve EUCAST Önerilerine Göre Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten *Escherichia coli* İdrar İzolatlarında Fosfomisin Duyarlılığı*

Fosfomycin Susceptibility of Urinary *Escherichia coli* Isolates Producing Extended-Spectrum Beta-Lactamase According to CLSI and EUCAST Recommendations

Sabahat ÇAĞAN AKTAŞ¹, Serap GENÇER¹, Ayşe BATİREL¹, Demet HACİSEYİTOĞLU², Serdar ÖZER¹

¹ Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul.

¹ Dr. Lütfi Kırdar Kartal Training and Research Hospital, Clinic of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Istanbul, Turkey.

² Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul.

² Dr. Lütfi Kırdar Kartal Training and Research Hospital, Clinical Microbiology Laboratory, Istanbul, Turkey

* Bu çalışma, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (EKMUD) 2013 Bilimsel Platformu (20-24 Mart 2013, Antalya)'nda poster bildirisi olarak sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 21.07.2014 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 25.09.2014

ÖZET

Üriner sistem enfeksiyonlarının en sık etkeni olan *Escherichia coli*'de giderek artan antibiyotik direnci, ampirik tedavi seçiminde ve tedavi başarısında sorun yaratmaktadır. Bu çalışmada, özellikle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten izolatların tedavisinde iyi bir seçenek olarak sunulan fosfomisin in vitro etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya, Mayıs 2011-Mayıs 2012 tarihleri arasında ayaktan ve yatan hastalara ait idrar örneklerinden izole edilen, 118'i GSBL pozitif, 126'sı GSBL negatif olmak üzere toplam 244 *E.coli* suşu dahil edilmiştir. İzolatların antibiyotik duyarlılıkları CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) önerilerine göre disk difüzyon yöntemi (DDY) ile, GSBL üretimleri ise çift disk sinerji yöntemiyle araştırılmış; fosfomisin minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerleri E-test yöntemiyle belirlenmiştir. İzolatların fosfomisin zon çapları ve MİK değerleri CLSI ve EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) sınır değerlerine göre ayrı ayrı yorumlanmıştır. GSBL üreten ve üretmeyen izolatların fosfomisin ve diğer antibiyotiklere karşı duyarlılıkları ve fosfomisinin farklı yöntemlere ait sonuçları karşılaştırılmış; fosfomisin zon çapları ve MİK değerleri arasındaki korelasyon hesaplanmıştır. Çalışmamızda, siprofloksasin, trimetoprim-sülfametoksazol, gentamisin ve amikasin

İletişim (Correspondence): Uzm. Dr. Sabahat Çağan Aktaş, Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Kartal 34890, İstanbul, Türkiye.
Tel (Phone): +90 216 4413900/1951, E-posta (E-mail): sabahataktas@gmail.com

karşı direnç oranları, GSBL pozitif izolatlarda sırasıyla %67, %51, %51 ve %19; GSBL negatif izolatlarda sırasıyla %9, %21, %4 ve %11 olarak belirlenmiş; gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). Fosfomisin direnci DDY ile GSBL üreten izolatların %3'ünde, üretmeyen izolatların %1'inde saptanmış; her iki grup arasında anlamlı bir farklılık izlenmemiştir ($p = 0.356$). Fosfomisin MİK değeri CLSI önerilerine göre değerlendirildiğinde, GSBL pozitif ve negatif izolatların sırasıyla %98.3 ve %100'ünde; EUCAST önerilerine göre değerlendirildiğinde ise sırasıyla %98.3 ve %99.2'sinde fosfomisin duyarlılığı belirlenmiştir. CLSI ve EUCAST önerilerine göre iki grup arasında fosfomisine duyarlılık açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (sırasıyla, $p = 0.233$ ve $p = 0.611$). Yöntemler birbirleriyle karşılaştırıldığında; DDY ile CLSI-MİK ve EUCAST-MİK arasında (sırasıyla, $p = 0.033$ ve $p = 0.049$) ve CLSI-MİK ile EUCAST-MİK arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p < 0.001$). Fosfomisin zon çapları ile MİK değerleri arasında ters yönde zayıf bir doğrusal korelasyon mevcuttur ($r = -0.138$, $p = 0.032$). Sonuç olarak, GSBL üreten suşların da yüksek duyarlılık göstermesi nedeniyle, fosfomisinin üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde uygun bir alternatif oluşturduğu düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: *Escherichia coli*; GSBL; fosfomisin; antimikrobiyal duyarlılık; CLSI; EUCAST.

ABSTRACT

The increasing rate of antibiotic resistance in *Escherichia coli*, the most common pathogen of urinary tract infections (UTIs), leads to difficulties in choosing appropriate antibiotic treatment and achieving treatment success. The aim of this study was to investigate in vitro activity of fosfomycin, presented as a favorable choice for the treatment of UTIs caused especially by extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing strains. A total of 244 *E.coli* strains, of them 118 were ESBL positive and 126 were negative, isolated from urine samples of inpatients and outpatients between May 2011-May 2012, were included in the study. Antibiotic susceptibilities of the isolates were determined by disk diffusion method (DDM) and ESBL production was confirmed by double-disc diffusion method according to the CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) recommendations. Minimum inhibitor concentration (MIC) values for fosfomycin were detected by E-test method. Fosfomycin zone diameters and MIC values of isolates were interpreted according to the breakpoints of both CLSI and EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). Susceptibilities of ESBL positive and negative isolates to fosfomycin and other antibiotics, and the results of fosfomycin susceptibility tests obtained by different methods were compared. The correlation between fosfomycin zone diameters and MIC values was calculated. In the study, the resistance rates of ESBL-producing isolates to ciprofloxacin, trimethoprim-sulfamethoxazole, gentamicin and amikacin were detected as 67%, 51%, 51% and 19%, respectively, while those rates were as 9%, 21%, 4% and 11%, respectively in non-ESBL producers. The difference between the two groups were found statistically significant ($p < 0.001$). Fosfomycin resistance of ESBL-producing and non-producing isolates were 3% and 1%, respectively, indicating no significant difference between the two groups ($p = 0.356$). According to fosfomycin MIC breakpoints defined by CLSI, 98.3% of ESBL-producing isolates and 100% of non-producing isolates were found susceptible to fosfomycin. According to EUCAST recommendations 98.3% of ESBL-producing isolates and 99.2% of non-producing isolates were found susceptible to fosfomycin. There was no significant difference between ESBL-positive and -negative strains according to CLSI and EUCAST recommendations ($p = 0.233$ and $p = 0.611$, respectively). When the methods were compared with each other, there were significant differences between DDM and CLSI-MIC or EUCAST-MIC ($p = 0.033$ and $p = 0.049$, respectively) and between CLSI-MIC and EUCAST-MIC ($p < 0.001$). There was a weak reverse linear correlation between fosfomycin zone diameters and MIC values ($r = -0.138$, $p = 0.032$). It was concluded that fosfomycin which had a high activity against ESBL-producing isolates was an appropriate alternative antibiotic in the treatment of UTIs.

Key words: *Escherichia coli*; ESBL; fosfomycin; antimicrobial susceptibility; CLSI; EUCAST.

GİRİŞ

Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE), hastanede gelişen ve toplumda gelişen enfeksiyonlar arasında ilk sıralarda yer almakta olup, etken mikroorganizmalar arasında *Escherichia coli* başta gelmektedir. ÜSE'nin tedavisi genellikle sorunsuz olsa da, giderek artan antibiyotik kullanımının sonucunda ortaya çıkan antibiyotik direnci tedavi seçeneklerini kısıtlamakta ve *E.coli* tedavisini sorunlu hale getirmektedir. En önemli sorun, tüm dünyada bölgelere göre değişmekle birlikte, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) sıklığının giderek artması ve bu suşların genellikle diğer birçok antibiyotiğe de dirençli olmasıdır¹. Gelişen yüksek direnç oranları; tedavi başarısızlığı, enfeksiyonun tekrarlaması veya kronikleşmesi, tedavi maliyetlerinde artış, hastanede kalma süresinde uzama, kalıcı komplikasyonların gelişimi, giderek yükselen morbidite ve mortalite oranları gibi pek çok olumsuz durumu da beraberinde getirmektedir².

GSBL üreten *E.coli* izolatları, sıklıkla kinolonlar ve trimetoprim-sülfametoksazol gibi oral formu bulunan antibiyotiklere de yüksek oranda direnç gösterdikleri için, ÜSE gelişen hastalar sıklıkla hastaneye yatırılarak parenteral yoldan tedavi edilmeye çalışılmaktadır. Gereksiz hastanede yatış ve maliyetin yükselmesi yanında, iş gücü kaybı gibi sosyoekonomik etkileri de göz önüne alındığında, ÜSE'nin toplum açısından da sorun yarattığı açıktır. GSBL üreten izolatların neden olduğu ÜSE'de, hastaneye yatış gerektirmeyen ayaktan oral yeni tedavi seçeneklerine gereksinim duyulmaktadır. Bu alternatiflerden biri de fosfomisin'dir. Fosfomisin, uzun yıllardır başta ÜSE olmak üzere çeşitli enfeksiyonların tedavisinde kullanılmasına rağmen, dünyada *E.coli* suşlarındaki direnç insidansının son derece düşük kaldığı (yaklaşık %1) nadir antibiyotiklerden biri olma özelliğini taşımaktadır³. Ancak bu durumun merkezden merkeze, belki zamana göre değişmesi olasıdır. Bu çalışmada, toplumda ve hastanede gelişen ÜSE etkeni olan *E.coli* izolatlarında in vitro fosfomisin duyarlılığının E-test ile belirlenmesi, sonuçların disk difüzyon yöntemi sonuçlarıyla karşılaştırılması ve ayrıca GSBL üreten ve üretmeyen suşlar arasındaki farklılığın araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Mayıs 2011-Mayıs 2012 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen idrar örneklerinden, konvansiyonel yöntemlerle izole edilen ve tanımlanan 244 *E.coli* suşu alındı. EMB agarda metalik refle veren koloni oluşturan, oksidaz testi negatif, karbonyhidratlardan (laktoz, glukoz) fermentasyonla asit ve gaz oluşturan, indol ve metil kırmızısı testleri pozitif ve sitrat testi negatif olan gram-negatif izolatlar *E.coli* olarak tanımlandı. Gerekteğinde API 20E (bioMérieux, Fransa) yarı-otomatize sisteminden yararlanıldı. İzolatların antibiyotik duyarlılıkları, "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" önerilerine göre disk difüzyon yöntemi (DDY) ile, GSBL üretimi ise çift disk sinerji yöntemiyle araştırıldı⁴.

İdrar örneklerinde 10^5 koloni oluşturan birim (cfu)/ml'nin üzerinde koloni oluşturan *E.coli* izolatlarından GSBL üretenler çalışma grubu olarak, üretmeyenler ise kontrol grubu olarak ayrıldı. Tüm suşlar, boncuklu saklama besiyerine alınarak çalışma gününe kadar saklandı. Bu izolatların DDY ile tespit edilen fosfomisin zon çapları ve örneğin ait olduğu klinik ve hasta kimlik bilgileri kaydedildi. Aynı hastaya ait tekrar izolatlar ve DDY ile fosfo-

misin duyarlılığı bakılamayanlar çalışma dışı bırakıldı. Buna göre; GSBL üreten 118 *E.coli* izolatu çalışma grubunu, GSBL üremeyen 126 *E.coli* izolatu da kontrol grubunu oluşturdur.

Tarama Testi

CLSI⁴ önerilerine göre; DDY ile sefotaksim, seftriakson, seftazidim, sefpodoksim veya aztreonama karşı duyarlılığın azaldığının saptanması halinde (inhibisyon zon çapları sırasıyla; ≤ 22 mm; ≤ 19 mm; ≤ 17 mm; ≤ 17 mm; ≤ 17 mm ise) GSBL varlığından şüphelenilerek, doğrulama testleri olarak çift disk sinerji testi veya fenotipik doğrulama testi uygulandı.

Çift Disk Sinerji Testi

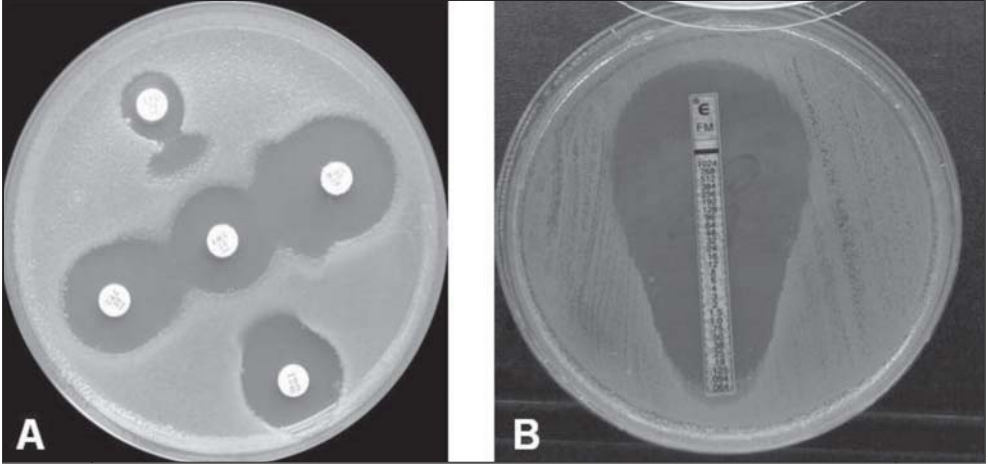
GSBL araştırmak için McFarland 0.5 standardı yoğunluğunda olacak şekilde hazırlanan bakteri süspansiyonunun yayıldığı Mueller-Hinton agar (MHA) plağının ortasına amoksisilin-klavulanik asit (20/10 µg) diski ve etrafında disk merkezinden disk merkezine uzaklığı 20-30 mm olacak şekilde aztreonam (30 µg), seftazidim (30 µg), seftriakson (30 µg) ve sefotaksim (30 µg) diskleri yerleştirildi. Daha sonra plaklar 37°C'de 16-18 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda amoksisilin-klavulanik asit diski ile etrafındaki diğer disklerin inhibisyon zonlarının kesiştiği bölgede zonlarda genişleme veya bir inhibisyon alanının gözlenmesi GSBL varlığı olarak yorumlandı (Resim 1A).

Fenotipik Doğrulama Testi

Doğrulama testleri klavulanik asit ve indikatör sefalosporinler ve/veya monobaktam arasındaki sinerjinin gösterilmesi temeline dayanmaktadır. Sık olarak kullanılan yöntemler; sefotaksim (30 µg) veya seftazidim (30 µg) disklerine klavulanik asit (10 µg) eklenmiş disklerin kullanılmasıdır. Çalışmamızda, McFarland 0.5 standardında hazırlanan bakteri süspansiyonu MHA besiyeri plağına yayılarak ekildi ve üzerine klavulanik asit içeren ve içermeyen sefotaksim ve seftazidim diskleri yerleştirilerek 37°C'de 16-18 saat inkübe edildi. Klavulanik asit içeren ve içermeyen disklerin etrafındaki inhibisyon zonları ölçülerek karşılaştırıldı. Kombinasyon diskleri etrafındaki zon çapı klavulanik asit içermeyen disk etrafındaki zon çapına göre 5 mm veya daha üzerinde ise CLSI⁴ önerilerine göre GSBL üretimi açısından pozitif kabul edildi.

Fosfomisin Duyarlılığı

Boncuklu saklama besiyerleri, çalışma gününden bir gün önce derin dondurucudan çıkarılarak oda ısısında çözüldü ve izolatların EMB agar besiyerine pasajı yapılarak 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. Kolonilerden steril serum fizyolojik içinde 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanıp MHA besiyerine yayılarak ekim yapıldı ve fosfomisin E-test stripleri yerleştirildi. 37°C'de 18-24 saat inkübasyon sonrası fosfomisin minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerleri belirlendi (Resim 1B). İzolatların fosfomisin zon çapları ve MİK değerleri CLSI ve "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)"⁵ sınır değerlerine göre ayrı ayrı yorumlandı. CLSI⁴ kriterlerine göre MİK değeri ≥ 256 µg/ml olanlar dirençli, ≤ 64 µg/ml olanlar ise duyarlı olarak kabul edildi.



Resim 1. (A) Çift disk sinerji testi ile GSBL'nin gösterilmesi; (B) Fosfomisin E-test sonucu.

İstatistiksel Analiz

GSBL üreten ve üretmeyen izolatların fosfomisin ve diğer antibiyotiklere karşı duyarlılıkları ve fosfomisin farklı yöntemlere ait sonuçları ki-kare testi ve Fisher's exact test ile karşılaştırıldı. Fosfomisin zon çapları ve MİK değerleri arasındaki korelasyon için Spearman korelasyon katsayısı hesaplandı. $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışma döneminde laboratuvarımızda idrar örneklerinden izole edilen ve antibiyogramaya alınan toplam *E.coli* izolat sayısı 1948 olup, bunlardan 590 (%30)'ünün GSBL ürettiği saptanmıştır. GSBL üretenlerden 118'i çalışma grubunu, üretmeyenlerden 126'sı ise kontrol grubunu oluşturmuştur.

Çalışmaya alınan 244 izolatın 181 (%74)'i kadın hastalara, 210 (%86)'u ise ayaktan hastalara ait idrar örneklerinden izole edilmiştir (Tablo I). GSBL pozitif suşların %62.7 (74/118)'si kadın ve %37.3 (44/118)'ü erkek olgulara ait olup, aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0.001$). Benzer olarak, çalışma grubunun %77 (91/118)'sine karşılık kontrol grubunun %94 (119/126)'ü ayaktan hastalara ait olup, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.001$) (Tablo I). Tüm izolatların kliniklere göre dağılımı incelendiğinde, iç hastalıkları kliniğinin %29 ile ilk sırayı aldığı, bunu %25 ile üroloji kliniğinin izlediği görülmüştür.

Çalışma ve kontrol grubu izolatlarının DDY ile belirlenen siprofloksasin (CIP), trimetoprim-sülfametoksazol (SXT), amikasin (AMK), gentamisin (GEN) ve fosfomisin (FOS) duyarlılıkları Tablo II'de görülmektedir. CIP, SXT, GEN ve AMK direnci GSBL pozitif izolatlarda sırasıyla %67, %67, %51 ve %19; GSBL negatif izolatlarda sırasıyla %9, %21, %4 ve %11 olarak bulunmuş ve her iki grup arasında anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.001$). Buna karşın FOS direnci, GSBL pozitif ve negatif izolatlarda sırasıyla %3 ve %1 olup, aradaki fark anlamlı değildir ($p = 0.356$) (Tablo II).

Tablo I. GSBL Üreten ve Üretmeyen *E.coli* Suşlarının İzole Edildiği Hastaların Demografik Özellikleri

	Tüm izolatlar (n= 244)	Çalışma grubu (GSBL pozitif) (n= 118)	Kontrol grubu (GSBL negatif) (n= 126)	p değeri
Kadın/erkek	181/63	74/44	107/19	< 0.001
Yaş (medyan, yıl)	47	50	42	
Ayaktan/yatan hasta	210/34	91/27	119/7	< 0.001

Tablo II. GSBL Üreten ve Üretmeyen *E.coli* İzolatlarının CLSI Sınır Değerlerine Göre DDY ile Belirlenen Antibiyotik Duyarlılıkları

	Çalışma grubu (GSBL pozitif) (n= 118)	Kontrol grubu (GSBL negatif) (n= 126)	p değeri
	Sayı (%)	Sayı (%)	
Siprofloksasin	39 (33)	114 (91)	< 0.001
SXT	39 (33)	98 (79)	< 0.001
Amikasin	96 (81)	112 (89)	< 0.001
Gentamisin	58 (49)	121 (96)	< 0.001
Fosfomisin	115 (97)	125 (99)	0.356

GSBL: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz; SXT: Trimetoprim-sülfametoksazol.

Fosfomisinin E-test ile belirlenen $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri Tablo III'te görülmektedir. $MİK$ değeri CLSI önerilerine göre değerlendirildiğinde, GSBL pozitif ve negatif izolatların sırasıyla %98.3 ve %100'ünde; EUCAST önerilerine göre değerlendirildiğinde ise, sırasıyla %98.3 ve %99.2'sinde FOS duyarlılığı belirlenmiştir (Tablo III). Her iki farklı öneriye göre de iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (sırasıyla, $p = 0.233$ ve $p = 0.611$).

Yöntemler birbirleriyle karşılaştırıldığında; DDY ile CLSI- $MİK$ ve EUCAST- $MİK$ ile belirlenen duyarlılıklar arasında (sırasıyla, $p = 0.033$ ve $p = 0.049$) ve CLSI- $MİK$ ile EUCAST- $MİK$ arasında ($p < 0.001$) anlamlı farklılık bulunmuştur (Tablo IV). Fosfomisin zon çapları ile $MİK$ değerleri arasında ters yönde zayıf bir doğrusal korelasyon mevcuttur ($r = -0.138$, $p = 0.032$).

Tablo III. GSBL Üreten ve Üretmeyen *E.coli* İzolatlarının CLSI ve EUCAST Sınır Değerlerine Göre E-test ile Belirlenen Fosfomisin $MİK$ Değerleri ve Duyarlılıkları (%)

	Çalışma grubu (GSBL pozitif) (n= 118)	Kontrol grubu (GSBL negatif) (n= 126)	p değeri
$MİK_{50}$ (µg/ml)	0.5	0.38	-
$MİK_{90}$ (µg/ml)	3	2	-
CLSI ($MİK \leq 64$ µg/ml)	116 (%98)	126 (%100)	0.233
EUCAST ($MİK \leq 32$ µg/ml)	116 (%98)	125 (%99)	0.611

GSBL: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz; $MİK$: Minimum inhibitör konsantrasyonu.

Tablo IV. GSBL Üreten ve Üretmeyen *E.coli* İzolatlarında CLSI ve EUCAST Sınır Değerlerine Göre E-test ve DDY ile Belirlenen Fosfomisin Duyarlılıklarının Karşılaştırılması

İzolatlar	MİK (µg/ml)		CLSI MİK (µg/ml)			EUCAST MİK (µg/ml)			DDY (CLSI) Zon çapı (mm)		
	%50	%90	R	I	S	R	I	S	R	I	S
			(≥ 256)	(128)	(≤ 64)	(> 32)		(≤ 32)	(≤ 12)	(13-15)	(≥ 16)
GSBL (+)	0.5	3	0	2	116	2	-	116	3	0	115
GSBL (-)	0.38	2	0	0	126	1	-	125	1	0	125
Toplam	0.5	2	0	2	242	3	-	241	4	0	240

R: Dirençli; S: Duyarlı; I: Orta (Intermediate); DDY: Disk difüzyon yöntemi; GSBL: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz; MİK: Minimum inhibitör konsantrasyonu.

TARTIŞMA

GSBL'ler, sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, seftizoksim, seftazidim, sefpirom ve sefepim gibi oksiimino sefalosporinleri hidrolize edebilen, aktif bölgelerinde serin bulunan ve genellikle klavulanik asit, sulbaktam veya tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörleriyle inhibe olan beta-laktamazlardır⁶. GSBL üreten *E.coli* suşlarının sıklıkla birçok antibiyotiğe dirençli olması, tedavi seçeneklerini sınırlamakta ve yeni alternatif arayışlarına yönlendirmektedir⁷. FOS, *Streptomyces* türlerinin fermentasyonu sonucu oluşan fosfoenolpiruvat analogudur. İki oral ve bir intravenöz olmak üzere üç formu (fosfomisin trometamin, fosfomisin kalsiyum, fosfomisin disodyum) vardır. FOS'un üriner *E.coli* izolatlarındaki in vitro etkinliğinin değerlendirildiği çalışmamızda, GSBL üretmeyen izolatlarda olduğu kadar GSBL üreten izolatlarda da FOS direncinin çok düşük olduğu bulunmuştur.

Ulusal direnç verilerinin bilinmesi optimum tedavinin belirlenmesi ve gereksiz antibiyotik kullanımının önlenmesi için önemlidir. Ülkemizden Hoşbul ve arkadaşlarının⁸ yaptığı bir çalışmada, 2007-2008 yıllarında komplike olmamış alt ÜSE olan hastalara ait *E.coli* izolatlarında %20 (150/771) oranında GSBL üretimi saptanırken, sadece 3 (%0.4) izolatla FOS direncine rastlanmıştır. Bu araştırmacılar, yatan ve ayakta hastalara ait izolatlarda GSBL pozitiflik oranları arasında anlamlı farklılık olduğunu (%34'e karşı %14) rapor etmişler; GSBL negatif izolatlarda (n= 621) FOS direncine rastlanmazken, GSBL pozitif izolatlarda bu direnci %2 (3/150) olarak bildirmişlerdir⁸. Demir ve arkadaşlarının⁹ çalışmasında da, 2008-2012 yılları arasında ÜSE etkeni olan 1562 *E.coli* izolatında FOS direnci %2 olarak saptanmış; GSBL üreten izolatlardaki FOS direnci üretmeyenlere göre yüksek (%19.2'ye karşı %2.9) bulunmuştur. Yine ülkemizden 1996-2012 yılları arasında bildirilen *E.coli* idrar izolatlarındaki direnç oranlarının meta-analizinde; nitrofurantoin (NIT) ve piperasilin direnç oranlarının giderek azaldığı, ancak CIP, sefepim (FEP), SXT direnci ve GSBL pozitiflik oranlarının arttığı saptanmıştır⁷. Bu analizde ayrıca, CIP ve FEP direncindeki artışla GSBL üretimi anlamlı bulunmuş ve seftriakson, imipenem (IPM), GEN, AMK direnç oranlarının coğrafi bölgelere göre değişim gösterdiği belirtilmiştir⁷.

Bizim çalışmamızda saptanan FOS direnç oranı (%1.7), 2012 yılındaki diğer çalışmaların^{8,9} bulgularından daha düşüktür. CIP direnç oranımız toplamda %37 iken, GSBL negatif izolatlarda %9, GSBL pozitiflerde ise %67 olarak saptanmış; son yıllarda yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında, bizim çalışmamızda kinolon direncinin özellikle GSBL pozitif suşlarda daha fazla olmak üzere tüm izolatlarda artmış olduğu izlenmiştir. Çalışmamızda saptanan SXT için genel direnç oranı %44 iken, GSBL pozitif ve negatif suşlarda sırasıyla %67 ve %21 olarak belirlenmiş ve diğer çalışmalarla benzer olduğu görülmüştür. Ülkemizden bildirilen çalışmalarda FOS ve diğer bazı antibiyotiklere karşı direnç oranları Tablo V'te özetlenmiştir⁸⁻¹⁵.

Avrupa ülkelerindeki *E.coli* idrar izolatlarının direnç durumuna bakıldığında; İspanya'da EUCAST önerilerine göre FOS direnci %9.1 olarak saptanmış; 2005-2009 yılları arasında FOS direncinin %4.4'ten %11.4'e ciddi bir artış gösterdiği vurgulanmıştır¹⁶. İsveç'te yapılan bir çalışmada, GSBL üreten suşların %95'inden fazlası AMK, FOS ve NIT'a duyarlı bulunmuş; suşların %68'inin çoğul dirençli olduğu belirtilmiştir¹⁷. Yine İsveç'te, DDY sonuçlarının EUCAST önerilerine göre değerlendirildiği bir çalışmada, CIP, SXT, NIT ve FOS için direnç oranları sırasıyla %72, %70, %7 ve %3 olarak bulunmuştur¹⁸. Fransa'da yapılan bir çalışmada, FOS ve NIT, izolatların %90'ından fazlasında ÜSE'nin oral tedavisinde etkili bulunmuş; seftazidim, FEP ve sefotaksim duyarlılığı sırasıyla %27, %23 ve %8 olarak saptanmıştır¹⁹. Yıllar içinde GSBL üreten bakterilerdeki değişimi araştıran, İspanya'da yapılan bir çalışmada; 2005, 2009 ve 2011 yıllarında bu oranın sırasıyla %3.9, %7.3 ve %8.7 şeklinde artış gösterdiği; izolatların %80'inde CIP ve %60'ında SXT direnci olduğu rapor edilmiştir²⁰.

Asya ülkelerindeki *E.coli* idrar izolatlarında direnç oranları, orta ve kuzey Avrupa'ya göre daha yüksek bildirilmektedir. Hindistan'da 2013 yılında yapılan bir çalışmada, 150 *E.coli* suşunun %52.6'sında GSBL saptanmış; CLSI önerilerine göre GSBL pozitif suşların tümü FOS'a duyarlı bulunmuş; DDY ve E-test ile elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir²¹. Bizim çalışmamızda, Mayıs 2011-Mayıs 2012 tarihleri

Tablo V. Ülkemizden Bildirilen Çalışmalarda Fosfomisin Direnç Oranları ve Dağılımı

Çalışma	Yıl	İl	Direnç oranları (%)				
			FOS	CIP	SXT	GEN	AMK
Öztürk ve ark. ¹⁰	2008	Düzce	0	29	36	38	
Hoşbul ve ark. ⁸	2009	Ankara	2	-	-	-	
Pullukçu ve ark. ¹²	2010	İzmir	1.4	50	54		23
Mengeloğlu ve ark. ¹¹	2011	Siirt	0	60	49.5	16.2	
Arman ve ark. ¹³	2012	55 farklı il	3.6	23.6	43.6		
Uzun ve ark. ¹⁴	2012	Tekirdağ	6.1	19.4		15.1	11.8
Tekin ve ark. ¹⁵	2012	Diyarbakır	2.3	59	60		
Demir ve ark. ⁹	2013	Kırşehir	2	29.5	41.7	19.6	2.1
Bu çalışma	2012	İstanbul	1.7	37	44	26.7	10.7

FOS: Fosfomisin; CIP: Siprofloksasin; SXT: Trimetoprim-sülfametoksazol; GEN: Gentamisin; AMK: Amikasin.

arasında laboratuvarımızda idrar örneklerinden izole edilen *E.coli* suşlarından %30'unun (590/1948) GSBL ürettiği saptanmıştır. Ayrıca çalışmada değerlendirilen 244 idrar izolata FOS duyarlılığı, DDY ve E-test karşılaştırıldığında CLSI'ya göre anlamlı fark bulunurken EUCAST'a göre anlamlı fark bulunmamıştır. Kore'de 2012 yılında yapılan bir çalışmada, MİK değerleri CLSI önerilerine göre yorumlanmış; GSBL üreten 165 *E.coli* suşunun %7.1'i FOS'a dirençli bulunmuştur²². Pakistan'da yapılan bir çalışmada da, GSBL üreten *E.coli* oranının 2005 yılında %33.7 iken, 2009-2010 yıllarında %60'a yükseldiği; 2005 yılında FOS direncine rastlanmazken, 2009-2010 yıllarında %3-15 oranında tespit edildiği bildirilmiştir²³. Japonya'da²⁴ GSBL pozitif *E.coli* suşlarında FOS ve SXT duyarlılığı sırasıyla > %90 ve %44.3 olarak bulunmuş; Çin'de²⁵ ise GSBL negatif *E.coli* suşlarında FOS direnci saptanmazken, GSBL pozitif suşlarda direnç %4.3 olarak rapor edilmiştir. Lübnan'dan bildirilen bir çalışmada, *E.coli* idrar izolatlarında CLSI önerilerine göre DDY yöntemiyle FOS duyarlılığı, GSBL pozitif ve negatif suşlarda sırasıyla %86 ve %97'dir²⁶. Bu çalışmada, GSBL üreten suşların CIP, FEP, SXT, tobramisin, GEN, piperasilin-tazobaktam, NIT, AMK ve IPM'ye duyarlılık oranları sırasıyla %24, %26, %26, %32, %45, %75, %95, %96 ve %99.7 olarak tespit edilmiştir²⁶.

Hombach ve arkadaşları²⁷, GSBL ve AmpC beta-laktamaz üreten klinik *Enterobacteriaceae* izolatlarında sefalosporin duyarlılığını CLSI 2013 ve EUCAST 2013 kriterlerine göre karşılaştırmışlar ve aralarında anlamlı farklılık saptamışlardır. Polsfuss ve arkadaşları²⁸ da, GSBL üretiminin saptanmasında CLSI ve EUCAST sınır değerlerini karşılaştırmışlar ve EUCAST önerilerine göre daha fazla sayıda GSBL üreten *Enterobacteriaceae* izolatu tanımlamışlardır²⁶. İspanya'da 13 merkezde yapılan bir çalışmada, GSBL üreten *E.coli* kan izolatlarında antibiyotik duyarlılığı 2009-2010 CLSI ve 2011 EUCAST yöntemlerine göre karşılaştırılmış ve sadece AMK duyarlılığında aralarında anlamlı bir fark saptanmıştır²⁹. CLSI 2010 önerilerine göre sefalosporine duyarlı kabul edilerek tedavi edilen 11 hastadan dördü kaybedilmiştir. Oysa bu hastaların izolatları EUCAST 2011 önerilerine göre sefalosporine dirençlidir²⁹. Bizim çalışmamızda, FOS duyarlılıkları EUCAST ve CLSI kriterlerine göre karşılaştırıldığında, iki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. EUCAST ve CLSI kriterlerine göre FOS MİK değerleri ve DDY karşılaştırıldığında ise, DDY ile CLSI-MİK ve EUCAST-MİK ile belirlenen duyarlılıklar arasında ve CLSI-MİK ile EUCAST-MİK arasında anlamlı farklılıklar saptanmıştır (Tablo IV).

Tüm in vitro çalışmalar, *E.coli* idrar izolatlarında FOS etkinliğinin çok yüksek olduğunu göstermekle beraber, bu durum her zaman in vivo etkinlikle paralel seyretmeyebilir. Bu nedenle klinik çalışmalar önem kazanmaktadır. 2010 yılında yapılan randomize kontrollü meta-analiz çalışmasında, sistit tedavisinde FOS ve diğer antibiyotikler arasında etkinlik açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır³⁰. Bu analizde, gebe olmayan kadınlarda, karma popülasyonda ve çocuklarda güvenlik profilinin iyi olduğu gösterilmiş, gebelerde ise yan etkisi çok az görülmüştür. Bu verilere göre, antibiyotiklere karşı direnç oranlarının arttığı bu dönemde, FOS'un tüm hasta gruplarında alternatif bir ilaç olduğu ifade edilmiştir³⁰. Komplikasyonsuz alt ÜSE olan yaşlı hastalarda (n= 60, yaş ortalaması: 68 yıl) yapılan bir başka çalışmada, 3 g tek doz fosfomisin trometamin ile yedi günlük 400 mg norfloksasin (2 x 1/gün) tedavisi karşılaştırılmış ve FOS ile elde edilen klinik ve bakteriyolojik iyileşmenin uzun tedaviye alternatif olduğu sonucuna varılmıştır³¹.

Hastanemizde GSBL pozitiflik oranı ayaktan hastalarda da yüksek seyretmektedir. Yaptığımız çalışma ve tüm literatür bilgilerinin ışığında, ÜSE'lerde sık ve gereksiz antibiyotik kullanımına bağlı olarak fosfomisin haricindeki oral kullanılan antibiyotiklerde yüksek oranda direnç rastlandığı görülmektedir. Bu da hem hasta sağlığı hem de maliyet açısından büyük kayıplara neden olmaktadır. Fosfomisin, GSBL üreten ve üretmeyen *E.coli* izolatlarında benzer yüksek etkinliğe sahiptir. Özellikle GSBL üreten *E.coli*'nin neden olduğu komplike ÜSE'lerin ayaktan tedavisinde de kullanılabilir etkili bir antibiyotiktir. Böylece, hem karbapenem kullanımı azaltılarak direnç gelişimi önenebilir, hem de hastanede yatarak tedaviye bağlı iş gücü kaybı ve maliyet artışının önüne geçilebilir. Ancak, bu yüksek etkinliğin daha fazla klinik çalışmalarla doğrulanması ve fosfomisin tedavisinin klinik başarısının da ortaya konması yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Oteo J, Perez-Vazquez M, Campos J. Extended-spectrum (beta)-lactamase producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact. *Curr Opin Infect Dis* 2010; 23(4): 320-6.
2. Goettsch W, van Pelt W, Nagelkerke N, et al. Increasing resistance to fluoroquinolones in *Escherichia coli* from urinary tract infections in the netherlands. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46(2): 223-8.
3. Schito GC. Why fosfomycin trometamol as first line therapy for uncomplicated UTI? *Int J Antimicrob Agents* 2003; 22(Suppl 2): 79-83.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-first Informational Supplement. CLSI Document M100-S21, 2011. CLSI, Wayne, PA.
5. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 1.3, January 5, 2011. Available at: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/EUCAST_breakpoints_v1.3_pdf.pdf
6. Stürenburg E, Mack D. Extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. *J Infect* 2003; 47(4): 273-95.
7. Aykan SB, Ciftci IH. Antibiotic resistance patterns of *Escherichia coli* strains isolated from urine cultures in Turkey: a meta-analysis. *Mikrobiyol Bul* 2013; 47(4): 603-18.
8. Hosbul T, Ozyurt M, Baylan O, et al. In vitro activity of fosfomycin trometamol in the treatment of *Escherichia coli* related uncomplicated urinary tract infections. *Mikrobiyol Bul* 2009; 43(4): 645-9.
9. Demir T, Buyukguclu T. Evaluation of the in vitro activity of fosfomycin tromethamine against Gram-negative bacterial strains recovered from community- and hospital-acquired urinary tract infections in Turkey. *Int J Infect Dis* 2013; 17(11): e966-70.
10. Öztürk CE, Kaya AD, Göçmen Ş, Arslan E. Toplum kaynaklı idrar yolu infeksiyonu etkeni olan *Escherichia coli* izolatlarının fosfomisin ile idrar yolu infeksiyonlarında sık kullanılan antibiyotiklere duyarlılıkları. *ANKEM Derg* 2008; 22(2): 81-4.
11. Mengeloğlu FZ, Demircan F, Oduncu MK. İdrar kültürlerinden soyutlanan *Escherichia coli* izolatlarının fosfomisine karşı in-vitro duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *ANKEM* 2011; 25(2): 99-102.
12. Pullukcu H, Aydemir ŞŞ, Taşbakan M, et al. Is there a rise in resistance rates to fosfomycin and other commonly used antibiotics in *Escherichia coli*-mediated urinary tract infections? A perspective for 2004 - 2011. *Türk J Med Sci* 2013; 43(4): 537-41.
13. Arman D, Ağalar C, Dizbay M ve ark. Birinci basamak sağlık merkezlerinde toplum kökenli alt üriner sistem enfeksiyonları: etkenler ve antimikrobiyal duyarlılıkları. *Mediterr J Infect Microb Antimicrob* 2012; 1: 10.
14. Uzun A, Gulen D, Tanrıverdi Y, Kaya AD. Fosfomisin ve bazı antimikrobiyal ajanların üriner *Escherichia coli* izolatlarına in vitro etkinliğinin değerlendirilmesi. *Klinik Derg* 2012; 25(2): 77-80.

15. Tekin A, Deveci Ö, Dal T, Tekin R, Özekinci T, Dayan S. Üropatojen *Escherichia coli* izolatlarına fosfomisin ve bazı antibiyotiklerin in vitro etkinliği. ANKEM 2012; 26(2): 61-8
16. Oteo J, Bautista V, Lara N, et al. Parallel increase in community use of fosfomycin and resistance to fosfomycin in extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli*. J Antimicrob Chemother 2010; 65(11): 2459-63.
17. Östholm Balkhed A, Tarnberg M, Monstein HJ, Hallgren A, Hanberger H, Nilsson LE. High frequency of co-resistance in CTX-M-producing *Escherichia coli* to non-beta-lactam antibiotics, with the exceptions of amikacin, nitrofurantoin, colistin, tigecycline, and fosfomycin, in a county of Sweden. Scand J Infect Dis 2013; 45(4): 271-8.
18. 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(12): 853-63.
19. Fournier D, Chirouze C, Leroy J, et al. Alternatives to carbapenems in ESBL-producing *Escherichia coli* infections. Med Mal Infect 2013; 43(2): 62-6.
20. Rodriguez-Avial C, Rodriguez-Avial I, Hernandez E, Picazo JJ. Increasing prevalence of fosfomycin resistance in extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* urinary isolates (2005-2009-2011). Rev Esp Quimioter 2013; 26(1): 43-6.
21. Gupta V, Rani H, Singla N, Kaistha N, Chander J. Determination of extended-spectrum beta-lactamases and AmpC production in uropathogenic isolates of *Escherichia coli* and susceptibility to fosfomycin. J Lab Physicians 2013; 5(2): 90-3.
22. Lee SY, Park YJ, Yu JK, et al. Prevalence of acquired fosfomycin resistance among extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in Korea and IS26-composite transposon surrounding fosA3. J Antimicrob Chemother 2012; 67(12): 2843-7.
23. Habeeb MA, Sarwar Y, Ali A, Salman M, Haque A. Rapid emergence of ESBL producers in *E.coli* causing urinary and wound infections in Pakistan. Pak J Med Sci 2013; 29(2): 540-4.
24. Nakamura T, Komatsu M, Yamasaki K, et al. Susceptibility of various oral antibacterial agents against extended spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. J Infect Chemother 2014; 20(1): 48-51.
25. Qiao LD, Chen S, Yang Y, et al. Characteristics of urinary tract infection pathogens and their in vitro susceptibility to antimicrobial agents in China: data from a multicenter study. BMJ Open 2013; 3(12): e004152.
26. Araj GF, Jaber FA. In vitro activity of fosfomycin and other antimicrobials against uropathogenic *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* at a tertiary care center in Lebanon. J Med Liban 2012; 60(3): 142-7.
27. Hombach M, Mouttet B, Bloemberg GV. Consequences of revised CLSI and EUCAST guidelines for antibiotic susceptibility patterns of ESBL- and AmpC β -lactamase-producing clinical *Enterobacteriaceae* isolates. J Antimicrob Chemother 2013; 68(9): 2092-8.
28. Polsfuss S, Bloemberg GV, Giger J, Meyer V, Hombach M. Comparison of European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) and CLSI screening parameters for the detection of extended-spectrum β -lactamase production in clinical *Enterobacteriaceae* isolates. J Antimicrob Chemother 2012; 67(1): 159-66.
29. Rodriguez-Bano J, Picon E, Navarro MD, Lopez-Cerero L, Pascual A; ESBL-REIPI Group. Impact of changes in CLSI and EUCAST breakpoints for susceptibility in bloodstream infections due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*. Clin Microbiol Infect 2012; 18(9): 894-900.
30. Falagas ME, Vouloumanou EK, Togias AG, et al. Fosfomycin versus other antibiotics for the treatment of cystitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. J Antimicrob Chemother 2010; 65(9): 1862-77.
31. Ferraro G, Ambrosi G, Bucci L, Palmieri R, Palmieri G. Fosfomycin trometamol versus norfloxacin in the treatment of uncomplicated lower urinary tract infections of the elderly. Chemotherapy 1990; 36(Suppl 1): 46-9.