

Toplum Kökenli Üriner Sistem Enfeksiyonlardan İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarında Fosfomisin Trometamol ve Bazı Antibiyotiklerin İn-Vitro Etkinliğinin Araştırılması

Investigation of in Vitro Activity of Fosfomycin Trometamol and Some Antibiotics in Escherichia coli Strains Isolated from Community-Acquired Urinary Tract Infections

Süleyman Durmaz¹, Türkan Toka Özer², Hüseyin Çelik³, Erkan Yula⁴

¹ Konya Numune Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Konya

² Mevlana Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya

³ Osmaniye Devlet Hastanesi Üroloji Bölümü, Osmaniye

⁴ Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

Özet

Amaç: *Escherichia coli* komplike olmayan üriner sistem enfeksiyonlarında (ÜSİ) en sık karşılaşılan etkidir. Tedavisinde sıklıkla tercih edilen antibiyotiklere son yıllarda artan oranlarda direnç bildirilmektedir. Bu çalışmada komplike olmayan ÜSİ etkeni olan *E. coli* enfeksiyonlarında tedavide alternatif olarak değerlendirilebilecek olan fosfomisin ve bazı antibiyotiklerin duyarlılık durumunun in-vitro olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Ocak-2012 ile Nisan 2013 arasında Osmaniye Devlet Hastanesi üroloji polikliniğine üriner sistem yakınmaları ile başvuran, komplike olmayan ÜSİ tanısı alan hastalardan izole edilen 122 *E. coli* suşu çalışmaya alınmıştır. Bakterilerin tanımlanması klasik yöntemlerle, antibiyotik duyarlılık durumları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimi, çift disk sinerji ve E-test yöntemiyle araştırılmış ve Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterlerine göre yorumlanmıştır. Bu çalışmada fosfomisin yanı sıra ÜSİ tedavisinde sık tercih edilen siprofloksasin, gentamisin, seftazidim, trimetoprim-sulfametaksazol ve imipenem diskleri kullanılarak duyarlılıklarına bakılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya alınan suşların %32.8'inin GSBL ürettiği tespit edilmiş olup GSBL üreten suşların 3'ünde (%7.5) fosfomisine direnç bulunurken GSBL üretmeyen tüm suşlar fosfomisine duyarlı olarak tespit edilmiştir. Çalışmadaki suşların siprofloksasin, gentamisin, trimetoprim-sulfametoksazol, seftazidim direnç oranları sırası ile %21.3, %32.8, %40.1, %49.1 olarak tespit edilmiştir. İmipenemden sonra en etkili antibiyotik fosfomisin olarak bulunmuştur.

Sonuç: Fosfomisin toplum kökenli komplike olmayan üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde iyi bir alternatif olabileceği tespit edildi. Ancak bu sonuçların daha fazla örnekle ve epidemiyolojik açıdan farklı bölgelerden izole edilen suşlarla desteklenmesi ve klinik geri bildirimlerle birlikte değerlendirilmesinin daha uygun olacağı düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: *Escherichia coli*, fosfomisin trometamol, in-vitro antibiyotik duyarlılık, üriner sistem enfeksiyonu.

Abstract

Objective: *Escherichia coli* is the most common factor in uncomplicated urinary tract infections (UTI). It has been reported that increasing resistance rate to antibiotics in the treatment of *Escherichia coli* infections in recent years. In this study, it was aimed to evaluate the antibiotic susceptibility pattern of fosfomycin which was considered as an alternative in the treatment of uncomplicated UTI and other antibiotics in vitro.

Method: Between January-2012 and April-2013, urine samples of 122 *E. coli* strains were included in the study isolated from urology outpatient clinic presenting with urinary tract symptoms, uncomplicated UTI in Osmaniye State Hospital. Identification of bacteria by conventional methods, antibiotic susceptibility patterns by the Kirby-Bauer disk diffusion method, extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production by double disk synergy and E-test was investigated according to the the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) criteria. It was investigated antibiotic susceptibility pattern of fosfomycin and ciprofloxacin, gentamycin, ceftazidime, trimethoprim-sulfamethoxazole and imipenem by the disc diffusion method.

Results: It was detected that 32.8% of the strains as ESBL-producing, 3 (7.5%) of them found resistant to be fosfomycin and all of strains that were non-ESBL-producing strains not found to be resistant to fosfomycin. It was determined that resistance rate of ciprofloxacin, gentamycin, ceftazidime, trimethoprim-sulfamethoxazole 21.3%, 32.8%, 40.1%, 49.1%, respectively. Fosfomycin were the second most effective antibiotic.

Conclusion: Fosfomycin in the treatment of uncomplicated community-acquired urinary tract infections were found to be a good alternative. However, these results are further supported by examples and epidemiological aspects of the strains isolated from different regions and would be more appropriate with clinical evaluation feedback was.

Keywords: *Escherichia coli*, fosfomycin trometamol, in-vitro antibiotic susceptibility, uriner tract infection.

Giriş

Toplum ve hastane kökenli enfeksiyonlar arasında görülme sıklığı olarak en ön sıralarda yer alan üriner sistem enfeksiyonlarına (ÜSİ) neden olan bakterilerin büyük bir bölümü

Enterobacteriaceae ailesindedir. Bu ailenin bir üyesi olan *Escherichia coli* ÜSİ'den en sık izole edilen etkidir (1,2). Toplum kökenli ÜSİ'nin %90'ından fazlasından *E. coli* sorumludur (3). Toplum kökenli ÜSİ'nin ampirik tedavisinde

çoğunlukla kullanılan kinolonlar, trimetropim-sulfametoksazol, beta-laktam antibiyotikler ve beta-laktam + laktamaz inhibitörü kombinasyonlarına karşı günümüzde direnç oranlarında artış görülmesi ve çoklu ilaç gruplarına dirençli patojenlerin ortaya çıkması ciddi problemlere yol açmaktadır. Bu durum tedavi yetersizliğine, ampirik tedavinin değiştirilmesi ihtiyacının duyulmasına, hastaneye yatış ve hastanede kalış süresinin uzamasına, tedavi maliyetlerinin artmasına, morbidite ve mortalitede artışa neden olmaktadır (4,5).

Son yıllarda mevcut antibiyotiklere karşı giderek artan direnç sorunu insanları farklı alternatiflere yönlendirmiştir. Bunlardan biride ülkemizde yakın zamanda kullanıma giren fosfomisin trometamol (fosfomisin)'dür. Fosfomisin foronik asit türevi olup *Streptomyces* spp.'den izole edilmiş bakterilerin hücre duvarı sentezine etki eden bir antibiyotiktir. Fosfomisin hücre duvarı sentezine olan etkisini peptidoglikan sentezinde rol alan bakterinin sitoplazmasındaki pürivil transferazı inhibe ederek gösterir. Fosfomisin gram pozitif ve negatif bakterilerin birçoğuna bakterisidal etki göstermektedir. Fosfomisin 24-36 saatten daha kısa bir süre içinde idrarda terapötik konsantrasyonlara ulaşması, tek doz kullanım avantajı, bakteriyel direnç gelişme olasılığı ve yan etkileri az olması, düşük maliyeti ve diğer antibiyotiklerle çapraz direncin düşük olması nedeni ile komplike olmayan ÜSİ tedavisinde alternatif olarak tercih edilebilecek bir seçenektir (5-7)

Bu çalışmada komplike olmayan ÜSİ etkeni olan *E. coli* izolatlarının fosfomisine ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının in-vitro olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Ocak 2012 ile Nisan 2013 arasında Osmaniye Devlet Hastanesi üroloji polikliniğine üriner sistem yakınmaları ile başvuran, komplike olmayan üriner sistem enfeksiyonu tanısı alan hastalardan izole edilen 122 *E. coli* suşu çalışmaya alınmıştır. Her hastadan bir izolat çalışmaya dahil edilmiştir. Steril koşullarda

alınan orta akım idrar örnekleri %5 kanlı agar ve Eosin Metilen Blue (EMB) agara kantitatif yöntemle ekilmiştir. Besiyerleri 37 °C'de 18-24 saat inkübasyonu taki-ben değerlendirilip tek tip üremesi olan ve kolo-ni sayısı $\geq 10^5$ CFU/mL olan toplam 122 kültür plağı işleme alınmıştır.

Klinik olarak komplike ÜSİ tanısı alan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Son bir ay içerisinde hastanede yatan ve idrar kültürlerinde birden fazla bakteri üreyen hastaların örnekleri çalışmadan çıkarılmıştır. Üriner sistem anomalisi olan ve sonda takılmış hastalar komplike ÜSİ olarak değerlendirilerek çalışma dışı tutulmuştur (2).

Bakterilerin tanımlanması klasik yöntemlerle, antibiyotik duyarlılık durumları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile Mueller-Hinton agar (Oxoid, İngiltere) kullanılarak yapılmış ve Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterlerine göre yorumlanmıştır (8). Duyarlılık testlerinde fosfomisinin (200 µg fosfomisin/50 µg glikoz-6-fosfat) (Oxoid, İngiltere) yanı sıra ÜSİ tedavisinde sık tercih edilen siprofloksasin, gentamisin, seftazidim, trimetoprim-sulfametoksazol ve imipenem diskleri (Oxoid, İngiltere) kullanılmıştır. İzolatların genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimi, çift disk sinerji yöntemiyle araştırılmıştır. GSBL şüpheli kökenler için E-test (AB Bio-disk, İsveç) ile confirmasyon testleri yapılmıştır. Antibiyotik testlerinde kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922 kullanılmıştır.

Bulgular

Çalışmaya alınan 122 *E. coli* suşundan 40'ının (%32.8) GSBL ürettiği tespit edilmiştir. GSBL üreten suşların 3'ünde (%7.5) fosfomisine direnç bulunurken GSBL üretmeyen tüm suşlar fosfomisine duyarlı olarak tespit edilmiştir. Çalışmadaki suşların siprofloksasin, gentamisin, trimetoprim-sulfametoksazol, seftazidime direnç oranları sırası ile %21.3, %32.8, %40.1, %49.1 olarak tespit edilmiş olup en fazla direnç oranı seftazidimde görülmüştür. Hem GSBL üreten hem de üretmeyen tüm *E. coli* suşlarına en etkili ajan imipenem olup sonra en etkili olan fosfomisin olarak bulunmuştur. GSBL



üretmeyen suşların tamamı fosfomisine duyarlı bulunmuştur (Tablo 1).

Tartışma

Dünyada ve ülkemizde yapılan pek çok çalışmada üriner sistem enfeksiyonlarında etken olarak en sık karşılaşılan ajan Enterobacteriaceae ailesinde yer alan *E. coli* cinsi bakteriler olarak görülmüştür (3,9,10). ÜSİ yapan bu üropatojen suşlar üzerinde yapılan çalışmalarda bunların yol açtığı enfeksiyonların tedavisinde sıklıkla kullanılan antibiyotiklere karşı oluşan antibiyotik direnç oranlarının giderek arttığı gözlenmiştir (5,11). Özellikle GSBL üreten kökenler bu enzimleri ile bütün penisilin, sefalosporin ve monobaktamları hidroliz eder ve yaygın antibiyotik dirençlerine neden olur. Bu kökenlerin yaptığı enfeksiyonlar daha ağır seyredip, tedavi seçeneklerini kısıtlar ve tedavi maliyetlerini artırırlar (11-13). Azalan tedavi seçenekleri hekimleri enfeksiyonlara karşı ellerindeki son alternatiflerden biri olan, pahalı ve hastanede yatarak tedaviyi zorunlu kılan karbapenem gurubu antibiyotikleri kullanmaya zorlamaktadır (14). Yüksek antibiyotik direncine karşı ellerdeki kozların yavaş yavaş tükenmesi bilim dünyasını farklı alternatifler aramaya itmıştır. İspanya'da yapılan bir çalışmada üropatojen 164 *E. coli* suşunda trime-toprim-sulfametoksazole %25, ampisiline %57.3, nalidiksik asite %20.1, siprofloksasine %14 direnç bulunurken, fosfomisine tüm suşlar duyarlı tespit edilmiştir (15). İsveçte yapılan bir çalışmada siprofloksasin, trime-toprim-sulfametoksazol ve fosfomisin direnç oranları sırasıyla %72, %70 ve %3 olarak bulunmuştur (16). İtalya'da

kinolon dirençli üropatojen *E. coli* suşları ile yapılan bir çalışmada, 79 suşun hiçbirinde, fosfomisine karşı direnç bulunmamış ve tedavide iyi bir alternatif olarak vurgulanmıştır (17). Ülkemizde 55 farklı ili kapsayan çalışmada fosfomisin direnci %3.6 çıkarken siprofloksasin ve trime-toprim-sulfametoksazol dirençleri sırasıyla %23.6 ve %43.6 olarak bulunmuştur (18). Tekin ve ark.(19) yaptığı çalışmada fosfomisin direnci %2.3 çıkarken siprofloksasin ve trime-toprim-sulfametoksazol direnç oranları %59 ve %60 olarak tespit edilmiştir. Taş ve ark. (20) bir üniversite hastanesinde yaptığı çalışmada fosfomisin direncini %1.9 olarak bildirmişler, Mengeloğlu ve ark. (21) bir devlet hastanesinde yaptıkları çalışmada dirençli suş saptamamışlardır. Demir ve ark.(22) yaptıkları çalışmada fosfomisin direnci %2 çıkarken siprofloksasin, trime-toprim-sulfametoksazol ve gentamisin direnç oranları sırasıyla %29.5, %41.7 ve %19.6 olarak bulunmuştur. Çalışmadaki suşların siprofloksasin, trimetoprim-sulfametoksazol ve gentamisin direnç oranları sırası ile %21.3, %40.1 ve %32.8 olarak tespit edilmiş olup bu sonuçlar Arman ve ark.'nın 55 ili kapsayan çalışma ve Demir ve ark.'nın yaptığı çalışma ile uyumludur. Yine bu çalışmalarla uyumlu olarak çalışmamızdaki bütün suşlar imipeneme duyarlı bulunurken karbapenemler dışında en etkili ajanın fosfomisin olduğu belirlendi. Özellikle GSBL üretmeyen suşların tamamının fosfomisine duyarlı bulunması ve GSBL üreten *E. coli* suşlarında ise fosfomisin direncinin %7.5 olması toplum kökenli ÜSİ'de fosfomisinin iyi bir alternatif olduğunu göstermektedir.

Tablo 1: Çalışmadaki *E. coli* suşlarının GSBL üretimi ve antibiyotik direnç oranları.

| GSBL üretimi | n (%) | Fosfomisin n (%) | CIP n (%) | GEN n (%) | SXT n (%) | Seftazidim n (%) | IMP n (%) |
|---------------|------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----------|
| GSBL + | 40 (32.8) | 3 (7.5) | 14 (35) | 14 (35) | 18 (45) | 40 (100) | 0 |
| GSBL - | 82 (67.7) | 0 (0) | 18 (22) | 26 (31.7) | 31 (37.8) | 20 (24.4) | 0 |
| Toplam | 122 | 3 (2.5) | 32 (21.3) | 40 (32.8) | 49 (40.1) | 60 (49.1) | 0 |

CIP: Siprofloksasin, GEN: Gentamisin SXT: Trimetoprim-sulfametoksazol, IMP: İmipenem, GSBL: Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz.

Sonuç olarak toplum sağlığı açısından önemli bir problem olan dirençli mikroorganizmalara bağlı gelişen infeksiyonların ampirik tedavisinde fosfomisin tek doz olarak kullanım kolaylığı, yüksek duyarlılık oranları, çapraz direnç gelişme ihtimalinin azlığı, alternatiflerine göre daha ekonomik olması ve düşük toksisitesi gibi avantajları göz önüne alınıp önemli bir alternatif olarak düşünülmelidir. Bu sonuçların daha fazla örnekle ve epidemiyolojik açıdan farklı bölgelerden izole edilen suşlarla desteklenmesi ve klinik geri bildirimlerle birlikte değerlendirilmesinin daha uygun olacaktır.

Kaynaklar

1. Özsüt H, Çalangu S (Editör). İdrar yolu infeksiyonları. In: Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. İnfeksiyon Hastalıkları. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri 1996: 921-931.
2. Sobel JD, Kaye D (Editör). Urinary Tract Infections. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. Churchill Livingstone, Newyork. 2000: 773-805.
3. Chomarat M. Resistance of bacteria in urinary tract infections. Int J Antimicrob Agents. 2000; 16 (4): 483-487.
4. Goettsch W, Van Plet 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):223-228.
5. Köken G, Aşık G, Çiftçi İH, Çetinkaya Z, Aktepe OC, Yılmaz M. Toplum kökenli üriner sistem infeksiyonu etkeni *Escherichia coli* suşlarında fosfomisin trometamol etkinliği. ANKEM 2008; 22 (1):23-27.
6. Hunter PA, and Reeves DS. The current status of surveillance of resistance to antimicrobial agents: report on a meeting. J Antimicrob Chemother 2002;49 (1):17-23.
7. Bozkurt ÖF, Kara C, Akarsu S, Çağlar M, Ünsal A. Semptomatik idrar yolu infeksiyonu olan kadınların tedavisinde tek doz fosfomisin etkinliğinin siprofloksasin ile karşılaştırılması. Türk Ürol Derg 2008;34:360-362.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Eighteenth Informational Supplement M100-S18, CLSI, Wayne, Pa (2008).
9. Ertuğrul MB, Atla-Güleç L, Akal D, Atahan ÇA, Özsüt H, Eraksoy H, Çalangu S. Üropatojen *E. coli* Suşlarının tedavide sık kullanılan antibiyotiklere duyarlılıkları Klimik Derg 2009;17 (2):132-136.
10. Kahlmeter G. An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECOSENS Project. J Antimicrob Chemother 2003;51 (1):69-76.
11. Tharavichitkul P, Khantawa B, Bousoung V, Boonchoo M. Activity of fosfomycin against extended-spectrum-β lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital. J Infect Dis Antimicrob Agents 2005; 22: 121-126.
12. Gray KJ, Wilson LK, Phiri A, Corkill JE, French N, Hart CA. Identification and characterization of ceftriaxone resistance and extended-spectrum – β – lactamases in Malawian bacteraemic Enterobacteriaceae. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2006; 57: 661–665.
13. Aykan SB, Ciftci İH. Antibiotic resistance patterns of *Escherichia coli* strains isolated from urine cultures in Turkey: a meta-analysis. Mikrobiyol Bul 2013; 47 (4): 603-618.
14. Falagas ME, Giannopoulou KP, Kokolakis GN, Rafailidis PI. Fosfomycin: Use beyond urinary tract and gastrointestinal infections. Clin Infect Dis 2008; 46: 1069-1077.
15. Alos JI, Serrano MG, Gómez-Garcés JL, Perianes J. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* from community-acquired urinary tract infections in relation to demographic and clinical data. Clin Microbiol Infect 2005;11 (3):199-203.
16. 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): 853-863.
17. Ungheri D, Albini E, Belluco G. In-vitro susceptibility of quinolone-resistant clinical isolates of *Escherichia coli* to fosfomisin trometamol. J Chemother 2002 ;14 (3):237-240.
18. Arman D, Ağalar C, Dizbay M ve ark. Birinci basamak sağlık merkezlerinde toplum kökenli alt üriner sistem infeksiyonları: etkenler ve antimikrobiyal duyarlılıkları. Mediterr J Infect Microb Antimicrob 2012; 1:10.
19. 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): 61-68.
20. Tas T, Mengelöglü Z, Kocoglu E, Bucak Ö. In vitro activity of fosfomycin against *Escherichia coli* strains isolated from recurrent urinary tract infections. South Eastern Europe Health Sciences Journal. 2013; 3 (2):147-151.
21. Mengelöglü FZ, Demircan F, Oduncu MK. İdrar kültürlerinden soyutlanan *Escherichia coli* izolatlarının fosfomisine karşı duyarlılıklarının değerlendirilmesi. ANKEM Derg. 2011; 25 (2): 99-102.
22. Demir T, Büyüköçlü 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): 966-970.

