

ÜRİNER SİSTEM İNFEKSİYONLARINDAN SOYUTLANAN TOPLUM KÖKENLİ *ESCHERICHIA COLI* SUŞLARINA FOSFOMİSİN TROMETAMOLÜN VE BAZI ANTİBİYOTİKLERİN İN-VİTRO ETKİNLİĞİ*

M. Hamidullah UYANIK, Hayrunisa HANCI, Halil YAZGI

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ERZURUM

ÖZET

Escherichia coli komplike olmayan alt üriner sistem infeksiyonlarından en sık izole edilen mikroorganizmadır. Bu çalışmada toplum kökenli üriner sistem infeksiyonlarından Ekim 2008-Şubat 2009 arasında izole edilen 139 *E.coli* suşunun fosfomisin trometamol (fosfomisin) de dahil antibiyotik duyarlılıkları ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimi araştırılmıştır. Suşlarda GSBL üretiminin saptanması, fosfomisin ve sıkça kullanılan antibiyotiklere duyarlılık CLSI önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır.

İncelenen 139 *E.coli* suşunun 36'sında (% 26) GSBL pozitif bulunmuştur. Fosfomisin GSBL üreten ve üretmeyen suşların tümüne in-vitro olarak etkili bulunmuştur.

Fosfomisinin *E.coli* suşlarına etkinliği ile amikasin ve imipenem etkinliği arasında anlamlı bir fark bulunmamış; trimetoprim-sulfametoksazol ($p<0.01$), gentamisin, siprofloksasin, ampisilin, seftriakson, sefazolinden ($p<0.001$) ise anlamlı olarak daha etkin bulunmuş, bu antibiyotiklere GSBL pozitif suşlardaki direnç negatif suşlardakine göre anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır ($p<0.01$).

Sonuç olarak, bölgemizde saptanan yüksek direnç oranları da göz önünde bulundurulduğunda, fosfomisin trometamol toplum kökenli idrar yolu infeksiyonlarının tedavisinde tercih edilebilecek bir antibiyotik olarak görülmektedir.

Anahtar sözcükler: antibiyotik direnci, *Escherichia coli*, fosfomisin trometamol, GSBL, idrar yolu infeksiyonu

SUMMARY

In-vitro Activity of Fosfomycin Trometamol and some other Antibiotics to *Escherichia coli* Strains Isolated from Community-acquired Urinary Tract Infections

Escherichia coli is the most commonly isolated microorganism in cases of uncomplicated lower urinary tract infection (UTI). In this study antibiotic susceptibilities and extended spectrum beta-lactamase (ESBL) activities of 139 *E.coli* strains isolated in the period of October 2008-February 2009 from community-acquired UTIs were evaluated. ESBL activities and susceptibilities to fosfomycin trometamol (fosfomisin) and to frequently used antibiotics were determined by Kirby-Bauer disk diffusion method according to CLSI standards.

Thirty-six of 139 *E.coli* strains (26 %) produced ESBL. Fosfomycin was found to be active on all ESBL-producing and non-ESBL-producing strains.

There was no significant difference between the efficacy of fosfomycin and that of imipenem and amikacin on *E.coli* strains; however efficacy of fosfomycin was found to be significantly higher when compared with trimethoprim-sulfamethoxazole ($p<0.01$), gentamicin, ciprofloxacin, ampicillin, ceftriaxone, cefazolin ($p<0.001$). The resistance of ESBL positive strains against the above mentioned antibiotics was significantly higher than the resistance of the ESBL negative strains ($p<0.01$).

In conclusion, fosfomycin may be an alternative for treatment of UTIs caused by *E.coli* in our region where resistance rates for frequently used antibiotics are high.

Keywords: antibiotic resistance, ESBL, *Escherichia coli*, fosfomycin trometamol, urinary tract infections

Yazışma adresi: M.Hamidullah Uyanık, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ERZURUM

Tel.: (0442) 231 69 32; GSM: (0535) 387 71 33

e-posta: mhuyanik@hotmail.com

Alındığı tarih: 14.09.2009, revizyon kabulü: 05.11.2009

*24.ANKEM Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi'nde sunulmuştur. Poster No.13 (29 Nisan-03 Mayıs 2009, Fethiye)

GİRİŞ

İdrar yolu infeksiyonlarına en sık *Enterobacteriaceae* ailesinden Gram negatif bakteriler neden olur^(4,21). Toplum kökenli idrar yolu infeksiyonlarının % 90'ından fazlasında sorumlu etken *Escherichia coli*'dir⁽⁵⁾. Günümüzde *E.coli*'nin neden olduğu toplum kökenli idrar yolu infeksiyonlarının ampirik tedavisinde sık kullanılan beta-laktam antibiyotikler, beta-laktam+beta-laktamaz inhibitör kombinasyonları, kinolonlar ve trimetoprim-sulfametoksazol gibi antibiyotiklere karşı direnç oranının artması, tedavide alternatif ilaçların kullanıma girmesine neden olmuştur⁽¹³⁾. Bu alternatif ilaçlardan biri de fosfomisin trometamol (fosfomisin)'dür.

Fosfomisin, peptidoglikan sentezinde rol alan bakteriyel sitoplazmik bir enzim olan pürüvil transferazı inhibe ederek Gram pozitif ve negatif bakterilerin bir çoğuna bakterisidal etki gösterir. İdrarda yüksek konsantrasyonlarda bulunabilmesi, toksisitesinin ve diğer antibiyotiklerle çapraz direncinin düşük olması nedeniyle komplike olmayan idrar yolu infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan bir ajandır^(8,15,23). Fosfomisin alt üriner sistem infeksiyonlarından soyutlanan *Staphylococcus aureus*, enterokok gibi Gram pozitif ve *E.coli*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Citrobacter* gibi Gram negatif birçok bakteriye karşı ekilidir⁽¹⁴⁾.

Bu çalışma, toplum kökenli üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *E.coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretim sıklığının ve idrar yolu infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan çeşitli antibiyotikler ile fosfomisine karşı direncin araştırılması amacıyla planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Ekim 2008-Şubat 2009 tarihleri arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen; idrar yolu infeksiyonlu hastalara ait idrar örneklerinden izole edilen 139 *E.coli* suşu alınmıştır.

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 takiben değerlendirilip tek tip üremesi olan ve koloni sayısı $\geq 10^5$ cfu/ml olan kültür plakları işleme alınmıştır. Bakteri tanımlanması klasik yöntemlerle, antibiyotik duyarlılık testleri ise Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi ile Mueller-Hinton agarda (Oxoid) yapılmıştır. GSBL üretimi CLSI önerileri doğrultusunda kombine disk yöntemi uygulanarak araştırılmıştır⁽⁶⁾. İzole edilen *E.coli* suşlarının trimetoprim-sulfametoksazol (SXT), amikasin, gentamisin, siprofloksasin, fosfomisin, imipenem, ampisilin, seftriakson ve sefazoline duyarlılıkları CLSI önerileri doğrultusunda Oxoid diskleri ile araştırılmıştır⁽⁶⁾. *E.coli* ATCC 25922, kontrol suşu olarak kullanılmıştır.

GSBL üreten ve üretmeyen suşların test edilen antibiyotiklere duyarlılıkları arasındaki fark, ki-kare testi (gerektiğinde Fisher's Exact test) (SPSS 15.0 programı) kullanılarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

139 *E.coli* suşunun 36'sında (% 26) GSBL pozitif bulunmuştur. GSBL üreten ve üretmeyen suşların test edilen antibiyotiklere duyarlılıkları tabloda gösterilmiştir.

Tablo. GSBL üreten ve üretmeyen *E.coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları [n (%)].

Antibiyotikler	GSBL pozitif (n: 36)		GSBL pozitif (n: 103)		p*
	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli	
SXT	10 (28)	26 (72)	61 (59)	42 (41)	<0.01
Amikasin	35 (97)	1 (3)	103 (100)	0	<0.02**
Gentamisin	17 (47)	19 (53)	93 (90)	10 (10)	<0.001
Siprofloksasin	11 (31)	25 (69)	88 (85)	15 (15)	<0.001
Imipenem	36 (100)	0	103 (100)	0	-
Ampisilin	0	36 (100)	39 (38)	64 (62)	<0.001
Seftriakson	0	36 (100)	95 (92)	8 (8)	<0.001
Sefazolin	0	36 (100)	87 (84)	16 (16)	<0.001
Fosfomisin	36 (100)	0	103 (100)	0	-

*GSBL üreten suşlarda üretmeyenlere göre direnç yükseklığının anlamlılığı. **Fisher's Exact test ile değerlendirildi.

GSBL üreten *E.coli* suşlarının tamamı imipenem ve fosfomisine duyarlı bulunmuşken, GSBL üretmeyenlerin tamamı imipenem ve fosfomisinin yanı sıra amikasinine karşı da duyarlı bulunmuştur. GSBL üreten suşların tamamı ampicilin, seftriakson ve sefazoline dirençli kabul edilmiştir.

Fosfomisinin *E.coli* suşlarına etkinliği ile amikasin ve imipenem etkinliği arasında anlamlı bir fark bulunmamış; SXT ($p<0.01$), gentamisin, siprofloksasin, ampicilin, seftriakson, sefazolinden ($p<0.001$) ise anlamlı olarak daha etkin bulunmuştur. Bu antibiyotiklere GSBL pozitif suşlardaki direnç negatif suşlardakine göre anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır ($p<0.01$).

TARTIŞMA

E.coli gerek toplum gerekse hastane kökenli idrar yolu infeksiyonlarının en sık etkenidir^(5,24). Toplum kökenli idrar yolu infeksiyonlardan izole edilen *E.coli* suşlarının GSBL üretmesi bu bakteri ile oluşan infeksiyonların tedavisinde güçlükler neden olmaktadır⁽²⁾. GSBL üreten bakteriler mortalite ve morbiditeyi artırmakta ve buna bağlı olarak tedavi giderlerinde de artışa neden olmaktadır⁽²²⁾. Bu mikroorganizmalarda aminoglikozid, trimetoprim, sülfonamid, tetrasiklin, kloramfenikol ve kinolon grubu antibiyotiklere direnç plazmid aracılığı ile taşınabileceğinden GSBL üreten mikroorganizmalar ile gelişen infeksiyonların tedavisinde bu antibiyotiklerle de tedaviye yanıt alınamama riski vardır^(11,18).

Toplum kökenli idrar yolu infeksiyonu etkeni olarak izole edilen *E.coli* suşlarında Koçoğlu ve ark.⁽¹²⁾ % 3.4, Özden ve ark.⁽¹⁶⁾ % 8.3, Pullukçu ve ark.⁽¹⁷⁾ % 17.7, Güdücüoğlu ve ark.⁽⁹⁾ % 18 oranında GSBL pozitifliği saptadıklarını bildirmişlerdir. Çalışmamızda *E.coli* suşlarının GSBL üretme oranı, ülkemizde yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında, daha yüksek olarak saptanmıştır.

Fosfomisin, uzun süredir Avrupa'da ve son zamanlarda ülkemizde komplike olmayan alt idrar yolu infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan bakterisidal etkinlik gösteren bir anti-

mikrobik ilaçtır. Fosfomisin uzun yıllardır *E.coli* ile oluşan komplike olmayan idrar yolu infeksiyonu tedavisinde kullanılmasına rağmen direnç oranlarını tespit etmek için yapılan çalışmalarda çeşitli ülkelerde % 1'ler gibi düşük oranlarda sonuçlar bildirilmektedir^(3,19).

1999-2000 yıllarını kapsayan ve 16 Avrupa ülkesi ve Kanada'daki 252 merkezin katıldığı bir çalışmada 4734 kadından (18-65 yaş arası) soyutlanan 2478 *E.coli* suşunun çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları incelenmiş ve en yüksek direnç ampiciline (% 29.8) karşı saptanırken, en düşük direnç fosfomisine (% 0.7) karşı saptanmıştır. Aynı çalışmada beta-laktam antibiyotik tüketiminin fazla olduğu ülkelerde ampiciline direnç oranının daha yüksek olduğu, yine kinolon tüketiminin fazla olduğu ülkelerde ise nalidiksik asit ve siprofloksasine karşı direnç oranının fazla olduğu saptanmıştır⁽¹⁰⁾.

2003-2006 yılları arasında on ülkeden 62 ayrı merkezin katıldığı bir çalışmada sistit yakınlaması olan 4264 kadından (18-65 yaş arası) alınan idrar örneklerinin 3018'inde üreme olmuş, üreten bakterilerin 2315 (% 76.7)'ini *E.coli* oluşturmuş ve bunlardan 39'unda (% 1.7) GSBL üretimi saptanmıştır. Soyutlanan 2315 *E.coli* suşunun çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları incelenmiş ve ampiciline % 48.3, SXT'e % 29.4, siprofloksasine % 8.1 ve fosfomisine % 0.6 oranında direnç saptanmıştır⁽²⁰⁾. Fosfomisinin GSBL üreten *E.coli* suşları üzerine etkinliğinin değerlendirilmesine yönelik agar dilüsyon yöntemi ile İspanya'da yapılan bir çalışmada suşların % 97.4'ünün fosfomisine duyarlı olduğu saptanmıştır⁽⁷⁾.

Koçoğlu ve ark.⁽¹²⁾ 2003-2005 yılları arasında Düzce'de poliklinik hastalarından alınan idrar örneklerinden izole edilen 267 *E.coli* suşunda GSBL araştırılmışlar ve % 3.4'ünde GSBL saptamışlardır. Aynı çalışmada bu *E.coli* suşlarının SXT, siprofloksasin, gentamisin ve amikasinine duyarlılığı araştırılmış, GSBL üretmeyen suşlarda SXT'e % 29.5, siprofloksasine % 16.3, gentamisine % 9.3 ve amikasinine % 1.9 oranında direnç saptanmışken, GSBL üreten suşlarda aynı antibiyotiklere direnci sırasıyla % 55.6, % 33.3 % 33.3 ve % 0 olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler Koçoğlu ve ark.⁽¹²⁾'nin çalışmasıyla karşılaştırıldığında yöremizden izole edilen *E.coli* suşlarının GSBL üretim oranı çok daha

yüksek olduğu ve her iki çalışmada da GSBL üreten *E.coli* suşlarının üretmeyenlere göre antibiyotiklere daha dirençli olduğu görülmektedir.

Güdücüoğlu ve ark.⁽⁹⁾ 2006 yılında Van'da poliklinik hastalarından izole edilen 420 *E.coli* suşunun 74'ünde (% 18) GSBL pozitifliği saptanmıştır. Bu çalışmada SXT, siprofloksasin, gentamisin ve sefoksitine karşı GSBL üreten suşlarda üretmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek direnç saptanmış, fosfomisin, amikasin ve imipeneme dirençli suşlarda anlamlı bir fark saptanmamıştır. Çalışmamızda da GSBL üreten suşlarda üretmeyenlere göre SXT ($p<0.01$), gentamisin, siprofloksasin, ampisilin, seftriakson ve sefazoline ($p<0.001$) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek direnç saptanmıştır.

Ayrıca yurdumuzda yapılan çeşitli çalışmalarda *E.coli* suşlarında fosfomisin direnç oranlarını Arslan ve ark.⁽²⁾ % 0.3, Arca ve Karabiber⁽¹⁾ % 0.8, Köken ve ark.⁽¹³⁾ % 0.6 oranında saptamışlardır. Çalışmamızda test edilen 139 *E.coli* suşunda fosfomisin direnci saptanmamıştır. Ayrıca tüm suşlar imipeneme de duyarlı bulunmuştur.

Sonuç olarak, bölgemizde saptanan yüksek direnç oranları da göz önünde bulundurulduğunda, çalışmamızda direnç saptamadığımız fosfomisin tek doz kullanımı, idrarda yüksek konsantrasyonlara erişebilmesi ve in-vitro olarak düşük direnç oranı nedeniyle özellikle *E.coli*'nin etken olduğu komplike olmayan toplum kökenli idrar yolu infeksiyonlarının tedavisinde tercih edilebilecek bir antibiyotik olarak görülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Arca AE, Karabiber N: Üriner sistem *E.coli* izolatlarının fosfomisin trometamol ve çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının karşılaştırılması, Mikrobiyol Bül 2007;41(1):115-9.
2. Arslan H, Azap OK, Ergonul O, Timurkaynak F, Urinary Tract Infection Study Group: Risk factors for ciprofloxacin resistance among *Escherichia coli* strains isolated from community-acquired urinary tract infections in Turkey, J Antimicrob Chemother 2005;56(5):914-8.
3. Aşık G, Çiftci İH, Aktepe OC, Çetinkaya Z, Altındış M: In vitro activity of fosfomycin against extended spectrum- β -lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains, Turk J Immunol 2008;13(1):1-4.
4. Bacheller CD, Bernstein JM: Urinary tract infections, Med Clin North Am 1997;81(3):719-30.
5. Chomarat M: Resistance of bacteria in urinary tract infections, Int J Antimicrob Agents 2000;16(4):483-7.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Eighteenth Informational Supplement M100-S18, CLSI, Wayne, Pa (2008).
7. De Cueto M, López L, Hernández JR, Morillo C, Pascual A: In vitro activity of fosfomycin against extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: comparison of susceptibility testing procedures, Antimicrob Agents Chemother 2006;50(1):368-70.
8. Falagas ME, Giannopoulou KP, Kokolakis GN, Rafailidis PI: Fosfomycin: use beyond urinary tract and gastrointestinal infections, Clin Infect Dis 2008;46(7):1069-77.
9. Güdücüoğlu H, Baykal S, İzci H, Berktaş M: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının antibiyotik direnci, ANKEM Derg 2007;21(3):155-60.
10. Kahlmeter G: Prevalence and antimicrobial susceptibility of pathogens in uncomplicated cystitis in Europe. The ECO.SENS study, Int J Antimicrob Agents 2003;22(Suppl 2):49-52.
11. Karaoğlu İ, Zer Y, Süner A, Namıdur M: Bazı Enterobacteriaceae türlerine ertapenemin in-vitro etkinliği, ANKEM Derg 2008;22(4):183-7.
12. Koçoğlu E, Karabay O, Koç İnce N, Özkardeş F, Yıldırım R: Toplum kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ve bazı antibiyotiklere direnç sıklığının araştırılması, ANKEM Derg 2007;21(1):5-9.
13. Köken G, Aşık G, Çiftci İH, Çetinkaya Z, Aktepe OC, Yılmaz M: Toplum kökenli üriner sistem infeksiyonu etkeni *Escherichia coli* suşlarında fosfomisin trometamol etkinliği, ANKEM Derg 2008;22(1):23-7.
14. Köksal İ (Konu çevirisi): Antibakteriyel ajanlar, "Başustaoglu A, Kubar A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M (çeviri editörleri): Klinik Mikrobiyoloji" kitabında s.1077-113, Atlas Kitapçılık, Ankara (2009).
15. Neu HC: Fosfomycin trometamol versus amoxycillin-single-dose multicenter study of urinary tract infections, Chemotherapy 1990;36(Suppl

- 1):19-23.
16. Ozden M, Kalkan A, Demirdag K, Kilic SS, Ozdarendeli A: Ciprofloxacin and co-trimoxazole resistance and extended spectrum beta-lactamase production in *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections, *Int J Antimicrob Agents* 2003;21(5):492-3.
 17. Pullukçu H, Taşbakan M, Aydemir Ş ve ark: İdrar kültürlerinden soyutlanan bakteriler ve çeşitli antibiyotiklere in-vitro duyarlılıklarının değerlendirilmesi, *ANKEM Derg* 2006;20(1):26-30.
 18. Raveh D, Yinnon AM, Broide E, Rudensky B: Susceptibilities of ESBL-producing Enterobacteriaceae to ertapenem, meropenem and piperacillin-tazobactam with and without clavulanic acid, *Chemotherapy* 2007;53(3):185-9.
 19. Schito GC: Why fosfomycin trometamol as first line therapy for uncomplicated UTI? *Int J Antimicrob Agents* 2003;22(Suppl 2):79-83.
 20. Schito GC, Naber KG, Botto H et al: The ARESC Study: An international survey on the antimicrobial resistance of pathogens involved in uncomplicated urinary tract infections, *Int J Antimicrob Agents* 2009 [Epub ahead of print].
 21. Sobel DJ, Kaye D: Urinary tract infection, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases, 6.ed." kitabında s.875-905, Churchill Livingstone, Philadelphia (2005).
 22. Sturenburg E, Mack D: Extended-spectrum-beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy and infection control, *J Infect* 2003;47(4):273-95.
 23. Taşbakan MI, Pullukçu H, Yamazhan T, Arda B, Ulusoy S: Toplum kökenli üriner sistem infeksiyonlarından soyutlanan *Escherichia coli* suşlarına fosfomisin'in in-vitro etkinliğinin diğer antibiyotiklerle karşılaştırılması, *ANKEM Derg* 2004;18(4):216-9.
 24. Yılmaz E, Ozakın C, Sınırtaş M, Gedikoğlu S: Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda 1999-2002 yılları arasında idrar örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları, *İnfeksiyon Derg* 2005;19(1):91-6.