



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAYDARPAŞA NUMUNE
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ

ÜRİNER SİSTEM ENFEKSİYONLARINDA İDRAR KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN GRAM NEGATİF BAKTERİLERDE FOSFOMİSİN DUYARLILIĞININ SAPTANMASINDA OTOMATİZE SIVI MİKRODİLÜSYON SİSTEMİ(VİTEK-2) İLE AGAR DİLÜSYON YÖNTEMİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr.Ezgi Akpınar

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)
İSTANBUL/2020

T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAYDARPAŞA NUMUNE
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ

ÜRİNER SİSTEM ENFEKSİYONLARINDA İDRAR KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN GRAM NEGATİF BAKTERİLERDE FOSFOMİSİN DUYARLILIĞININ SAPTANMASINDA OTOMATİZE SIVI MİKRODİLÜSYON SİSTEMİ(VİTEK-2) İLE AGAR DİLÜSYON YÖNTEMİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Ezgi Akpınar

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Sebahat Aksaray

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)
İSTANBUL/2020

TEŞEKKÜR

Asistanlığa başladığım ilk günden beri yanımda olan ve her daim destekçim olduğunu hissettiren, bilgi ve tecrübelerini bize her fırsatta aktarmaya çalışan değerli hocam ve aynı zamanda tez danışmanım Prof. Dr. Sebahat Aksaray'a,

Tez yapım ve yazım aşamasında her türlü desteğini ve bilgisini büyük özveriyle paylaşan sevgili uzmanımız Dr. Nilgün Kansak'a, asistanlık eğitimim boyunca bilgilerini bizlerle paylaşmaya her zaman hazır olan Doç. Rıza Adaleti, Dr. Neslihan Arıcı, Dr. Müge Aslan ve tüm uzmanlarımıza,

Asistanlık yıllarıma anlam katan, güzelleştiren, beraber eğlenip dertleştiğimiz, desteklerini her daim hissettiğim şimdilerde taze uzman olan sevgili arkadaşım Dr. Nihan Yıldız ve sevgili asistan arkadaşım Dr. Şeyma Çalık'a, yeni uzmanlarımız Dr. Gülden Aydın ve Dr. Kübra Özhan'a ve asistanlığımın ilk gününden bugüne benimle birlikte asistan odasında bulunmuş tüm arkadaşlarıma,

Her zaman yanımda olan, başarılarımla sevinip dertlerimle kederlenen, hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen annem, babam ve kardeşime,

En içten sevgi ve teşekkürlerimle…

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR……...i

İÇİNDEKİLER…….....ii

SİMGELER VE KISALTMALAR……..iv

TABLO LİSTESİ…….....v

ŞEKİL LİSTESİ…….....vi

ÖZET……vii

ABSTRACT……....ix

1.GİRİŞ VE AMAÇ……1

2.GENEL BİLGİLER……2

2.1.Üriner Sistem Enfeksiyonları…….2

2.1.1.Etiyoloji……3

2.1.1.1.*Enterobactericeae* ailesi…….3

2.1.1.2.*E.coli*…….....4

2.1.1.3.*K.pneumoniae*……...….7

2.2.Fosfomisin……....8

2.2.1.Fosfomisin Direnç Mekanizmaları……10

2.2.1.1.MurA İlişkili Kazanılmış Direnç……11

2.2.1.2.Antibiyotik Modifikasyonu İlişkili Kazanılmış Direnç……...11

2.3.Antibiyotik Duyarlılık Yöntemleri……..11

2.3.1.Disk Difüzyon Yöntemi……11

2.3.2.Gradient Difüzyon Yöntemi……..12

2.3.3.Agar Dilüsyon Yöntemi……12

2.3.4.Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi……12

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER…….....13

3.1.GEREÇLER…….....13

3.1.1. Çalışmaya Alınan Örnekler…….....13

3.1.2. Kullanılan Besiyerleri ve Malzemeler……..13

3.1.3.Kullanılan Cihazlar ve Aletler……...13

3.2. YÖNTEMLER…….....14
3.2.1. Suşların Toplanması……..14
3.2.2. İzolatların Hazırlanması ……...14
3.2.3. Antibiyotik Stok ve Çalışma Solüsyonlarının Hazırlanması……14
3.2.4. Agar Besiyerinin Hazırlanması ……....15
3.2.5. Petrilerin Hazırlanması…….....15
3.2.6. Agar Dilüsyon Yöntemi…….....15
3.2.7. Kalite Kontrol Suşlarının Çalışılması……....16
3.2.8. MİK Sonuçlarının Değerlendirilmesi……16
3.2.9. Test Performansının Değerlendirilmesi……17
4.BULGULAR……...18
5.TARTIŞMA……27
6.SONUÇ VE ÖNERİLER…….....35
7.KAYNAKLAR……...36
8.ÖZGEÇMİŞ……...41

SİMGELER VE KISALTMALAR

ATCC	American Type Culture Collection
BH	Büyük Hata
CLSI	Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute)
ÇBH	Çok Büyük Hata
ESBL	Geniş Spektrumlu Beta-laktamaz
EUCAST	Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)
IDSA	Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği (İnfectious Diseases Society of America)
KU	Kategorik Uyum
MALDI-TOF MS	Matriks ile Desteklenmiş Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanlı Kütle Spektrofotometresi
MİK	Minimal İnhibitör Konsantrasyon
MurA	UDP-N-asetilglukozamin enolpiruvil transferaz
TU	Temel Uyum
UPEC	Üropatojenik *E.coli*

TABLO LİSTESİ

Tablo 1 CLSI ve EUCAST fosfomisin duyarlılık değerlendirme kriterleri

Tablo 2 *E.coli* suşlarının agar dilüsyon yöntemi ve otomatize sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanan fosfomisin MİK değerleri

Tablo 3 *K.pneumoniae* suşlarının agar dilüsyon yöntemi ve otomatize sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanan fosfomisin MİK değerleri

Tablo 4 Kalite kontrol suşlarının agar dilüsyon yöntemi ile saptanan fosfomisin MİK değerleri

Tablo 5 Vitek-2 otomatize sıvı mikrodilüsyon sistem sonuçlarının referans yöntemle kategorik uyumu

Tablo 6 Vitek-2 otomatize sıvı mikrodilüsyon sistem sonuçlarının referans yöntemle temel uyumu

Tablo 7 Vitek-2 otomatize sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanan büyük hata ve çok büyük hata oranları

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1 Agar plaklarında fosfomisin MİK sonuçlarının değerlendirilmesi

Şekil 2 Çalışmaya dahil edilen suşların dağılımı

Şekil 3 *E.coli* ve *K.pneumoniae* için agar dilüsyon yöntemi ile elde edilen fosfomisin duyarlı ve dirençli suş sayıları

Şekil 4 *E.coli* ve *K.pneumoniae* için Vitek-2 ile elde edilen fosfomisin duyarlı ve dirençli suş sayıları

Şekil 5 Çalışma kapsamına alınan tüm suşların agar dilüsyon yöntemiyle saptanan fosfomisin MİK değerlerinin dağılımı

Şekil 6 *E.coli* suşlarının agar dilüsyon yöntemiyle saptanan fosfomisin MİK değerlerinin dağılımı

Şekil 7 *K.pneumoniae* suşlarının agar dilüsyon yöntemiyle saptanan fosfomisin MİK değerlerinin dağılımı

ÖZET

AMAÇ

Gram negatif bakterilerde fosfomisin duyarlılığının saptanması için Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi (EUCAST) ve Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından önerilen referans yöntem agar dilüsyondur. Ancak bu yöntemin mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin olarak uygulanması zordur. Otomatize sistemlerde daha kolay ve pratik bir şekilde antibiyotik duyarlılığı saptanmaktadır. Çalışmamızda fosfomisin duyarlılığını saptamada kullanılan otomatize sıvı mikrodilüsyon sistemi altın standart agar dilüsyon yöntemi ile karşılaştırılarak rutin çalışmalarda kullanılabilirliğinin irdelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına 01.06.2019 – 31.12.2019 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gönderilen idrar örneklerinden üriner sistem enfeksiyon etkeni olarak izole edilen toplam 100 adet *E.coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşu dahil edilmiştir. MALDI-TOF MS (bioMerieux, Fransa) ile tanımlanmış ve otomatize sıvı mikrodilüsyon sistemi (Vitek-2, bioMerieux, Fransa) ile antibiyotik duyarlılık testleri yapılmış suşların agar dilüsyon yöntemiyle fosfomisin duyarlılığı çalışılmıştır.

İki yöntemin karşılaştırılması amacıyla yapılan değerlendirmede yöntemler arasında, kategorik uyum(KU), temel uyum(TU), çok büyük hata(ÇBH), büyük hata(BH) değerleri hesaplanmıştır.

BULGULAR

İki yöntemin verileri karşılaştırıldığında KU; *E.coli* suşları için %100, *K.pneumoniae* suşları için %95,5 olarak saptanmıştır. *E.coli* suşları için BH ve ÇBH saptanmamıştır. *K.pneumoniae* suşlarında ise ÇBH saptanmazken, %18 oranında BH saptanmıştır.

SONUÇ

Çalışmamızda kategorik uyum oranlarının yüksek olmasına dayanarak Vitek-2 sisteminin rutin laboratuvarda kullanımının uygun olacağı düşünülmüştür. Ancak özellikle *K.pneumoniae* suşlarındaki yüksek hata oranları nedeniyle özellikle dirençli sonuçlar alınan izolatlarda referans yöntemle konfirme edilmeden sonuçların raporlanmaması gerektiği kanaati oluşmuştur.

ANAHTAR KELİMELER: Fosfomisin, agar dilüsyon, otomatize sıvı mikrodilüsyon yöntemi, Vitek-2, gram negatif bakteri

ABSTRACT

AIM

Agar dilution is the reference method recommended by the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) and the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) for the detection of fosfomycin sensitivity in gram negative bacteria. However, this method is difficult to apply routinely in microbiology laboratories. Antibiotic sensitivity is determined more easily and practically in automated systems. The aim of our study was to compare the automated broth microdilution system used with the gold standard agar dilution method to detect fosfomycin sensitivity, and to examine its usability in routine studies.

MATERIALS AND METHODS

A total of 100 strains of *E.coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated as urinary tract infection agents from urine samples sent to Haydarpaşa Numune Training and Research Hospital Medical Microbiology Laboratory between 01.06.2019 and 31.12.2019 were included in our study. The susceptibility of the strains that were identified with MALDI-TOF MS (bioMerieux, France) and tested for antibiotic susceptibility with the automated broth microdilution system (Vitek-2, bioMerieux, France) were studied with the agar dilution method for fosfomycin susceptibility.

In the evaluation is made for comparing the two methods, categorical agreement, essential agreement, very major error, and major error values were calculated among the methods.

RESULTS

The datas of the two methods were compared, the categorical agreement was found 100% for *E.coli* strains and 95,5% for *K.pneumoniae* strains. No major error or very major error was detected for *E. coli* strains. While no very major error was detected in *K.pneumoniae* strains, 18% major error was detected.

CONCLUSION

Based on the high categorical agreement rates in our study, it was thought that the VITEK-2 system would be suitable for routine laboratory use. However, due to the high error rates in *K.pneumoniae* strains, it has been concluded that the results should not be reported unless confirmed with the reference method, especially in resistant isolates.

KEYWORDS: Fosfomycin, agar dilution, automated broth microdilution method, Vitek-2, gram negative bacteria

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Üriner sistem enfeksiyonları hastaneye yatışların ve ilgili sağlık harcamalarının önemli bir kısmını oluşturan ve oldukça sık karşılaşılan enfeksiyonlardan biridir (1). Üriner sistem enfeksiyonlarının en sık sebebi gram negatif bakterilerdir. Toplum kökenli üriner sistem enfeksiyonlarının %90'ından fazlasında sorumlu etken *Escherichia coli* (*E.coli*) dir. İkinci en sık etken ise *Klebsiella pneumoniae* (*K.pneumoniae*) dır (2). Yaşlanan nüfus, yüksek komorbid hastalık ve polifarmasi oranları, antimikrobiyal ilaçlara alerji veya intolerans, altta yatan immünolojik veya anatomik problemleri olan hasta sayısının ve çoklu ilaca dirençli patojenlerin yaygınlığının artması üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisini zorlaştırmaktadır.

İdrar yolu enfeksiyonlarının tedavisi için antibakteriyel ilaçların kullanılması gerekmektedir. IDSA'nın rehberine göre fosfomisin üriner sistem enfeksiyonlarında ilk olarak önerilen antibiyotiklerden biridir. Oral uygulamadan sonra hızlı emilim, idrarda atılım konsantrasyonu, biyofilm aktivitesi ve geniş spektrumlu *beta-laktamaz* (*ESBL*) ve *AmpC* üreten *Enterobacteriaceae* gibi birçok ilaca dirençli mikroorganizmaya karşı etkinliği; fosfomisinin idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisi için kullanımını avantajlı kılmaktadır (1).

Gram negatif bakterilerde fosfomisin duyarlılığının saptanması için EUCAST ve CLSI tarafından önerilen referans yöntem agar dilüsyondur. Ancak bu yöntemin mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin olarak uygulanması zordur. Otomatize sistemlerde daha kolay ve pratik bir şekilde fosfomisin duyarlılığı saptanmaktadır. Çalışmamızda fosfomisin duyarlılığını saptamada otomatize sıvı mikrodilüsyon sisteminin altın standart agar dilüsyon yöntemi ile karşılaştırılması, performansının değerlendirilmesi ve rutin çalışmalarda kullanılabilirliğinin irdelenmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. ÜRİNER SİSTEM ENFEKSİYONLARI

İdrar yolu enfeksiyonları, dünya genelinde her yıl yaklaşık 150 milyon insanı etkileyen, en sık görülen bakteriyel enfeksiyonlardan biridir (3). Böbrekler, üreter, mesane ve üretra üriner sistemi oluşturmaktadır (4).

Klinik belirtiler ve piyüri ile birlikte böbrekte, toplayıcı sistemde ve/veya mesanede bakteri bulunması, idrar yolu enfeksiyonu olarak tanımlanmaktadır (5). Kadın, erkek ve tüm yaş gruplarında idrar yolu enfeksiyonu görülmektedir (6). Kadınlarda görülme sıklığı %10-35 olup, yaklaşık %50'sinde tekrarlayan enfeksiyonlar oluşmaktadır. Üriner sistem enfeksiyonunun 1-50 yaş arası erkeklerde görülme sıklığı %1'in altında iken yaş ilerledikçe prostat hipertrofisi ve prostat salgısının azalması ile paralel olarak bakteriüri prevalansı artar (7).

Bakteriyi mesaneden uzaklaştıran tam işeme; konsantre üre ve diğer organik asitlerle oluşan idrar asiditesi; bakterilerin üst üriner sisteme geri akışını önleyen vezikoüreteral valv mekanizması, lökosit fagositozu ve IgA üretimi idrar yolu enfeksiyonlarına karşı savunma mekanizmalarındandır (8).

Klinik olarak idrar yolu enfeksiyonları komplike olmayan veya komplike olarak sınıflandırılmaktadır. Komplike olmayan idrar yolu enfeksiyonları tipik olarak sağlıklı olan, herhangi bir yapısal veya nörolojik idrar yolu anormallikleri olmayan kişileri etkiler. Bu enfeksiyonlar alt idrar yolu enfeksiyonları (sistit) ve üst idrar yolu enfeksiyonları (piyelonefrit) olarak ayrılır. Cinsiyetin kadın olması, geçirilmiş idrar yolu enfeksiyonu öyküsü, cinsel aktivite, vajinal enfeksiyon, diyabet, obezite ve genetik duyarlılık üriner sistem enfeksiyonları için risk faktörleridir. Komplike idrar yolu enfeksiyonları ise; idrar yolu obstrüksiyonu, nörolojik hastalığın neden olduğu idrar retansiyonu, immunsupresyon, böbrek yetmezliği, böbrek nakli, gebelik, kalıcı yabancı cisimlerin varlığı gibi idrar yolunu veya konakçı savunmasını etkileyen faktörlerle ilişkili idrar yolu enfeksiyonlarıdır (3).

2.1.1. Etiyoloji

Komplike ve komplike olmayan idrar yolu enfeksiyonlarında en sık etken üropatojenik *E.coli*'dir. *K.pneumoniae*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus*

faecalis, grup B Streptococcus, *Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* ve *Candida spp* idrar yolu enfeksiyonlarından sık izole edilen diğer mikroorganizmalardandır (3).

2.1.1.1. Enterobacteriaceae Ailesi

Bu grup, tıbbi açıdan önemli gram negatif basillerin en büyük, heterojen grubudur. Tanımlanmış 50 den fazla cins ve yüzlerce türü bulunmaktadır. Bu cinsler biyokimyasal özellikleri, antijenik yapıları ve genomların moleküler analizlerine göre tanımlanmışlardır. *Enterobacteriaceae* grubu bakteriler tüm dünyada toprak, su ve bitki örtüsünde bulunur; insanlar da dahil olmak üzere çoğu hayvanın normal bağırsak florasının üyesidir (9).

Ailede *Escherichia, Shigella, Salmonella, Enterobacter, Klebsiella, Serratia,* Proteus ve diğer cinsler olmak üzere birçok cins bulunmaktadır. Bu mikroorganizmalar enterik bakteriler olarak isimlendirilir. Bazıları (*E.coli* gibi) normal mikrobiyota üyesidir ve fırsatçı patojen olarak tanımlanırlar. Diğer bazı *Enterobacteriaceae* üyeleri ise (*Salmonella, Shigella* gibi) daima patojendir ve hastalık oluştururlar. Birçok toksin ve virülans faktörleri üretebilirler (10).

Bu bakteriler insanlarda; idrar yolu enfeksiyonlarının %70'inden fazlasına, bakteriyemilerin üç/dörtte biri ve bağırsak enfeksiyonları gibi çeşitli enfeksiyon hastalıklarına neden olmaktadırlar (9).

Enterobacteriacea ailesinin üyeleri ortak bir enterobakteriyel antijene sahip, (0,3 ila 1.0 × 1,0 ila 6,0 um) büyüklüğünde, sporsuz, gram negatif basillerdir. %5 Koyun kanlı agar gibi seçici olmayan ve MacConkey agar gibi seçici olan besiyerlerinde hızlı, aerobik ve fakültatif anaerobik olarak üreyebilirler. Basit beslenme gereksinimlerine sahiptir, glikozu fermente eder, nitratı redükte eder ve katalaz pozitif, oksidaz negatiftir. Sitokrom oksidaz aktivitesinin olmaması nedeniyle basit ve hızlı bir şekilde test edilerek *Enterobacteriaceae* üyesi diğer fermenter ve nonfermenter gram negatif basillerden (*Vibrio, Pseudomonas*) kolaylıkla ayırt edilebilir (9).

Tipik olarak, *Enterobacteriaceae* üyeleri koyun kanlı agar üzerinde büyük, mat gri, kuru veya mukoid koloniler üretir; mukoid koloniler, kapsüllü *K.pneumoniae* suşlarını gösterir. Kanlı agarda hemoliz değişkendir. İnce bir film

veya swarming yapan koloniler, mikroorganizmanın hareketli ve muhtemelen bir *Proteus* türü olduğunu gösterir. Mac Conkey agarda kırmızı görünen veya eozin metilen mavisi (EMB) agarda yeşil refle veren koloniler, mikroorganizmanın ortamdaki laktozdan asit oluşturabildiğini gösterir (11)**.**

2.1.1.2.E.coli

Akut idrar yolu enfeksiyonu ve ürosepsisin en sık saptanan etkenidir. Theodor Escherich tarafından 1885'de bebek dışkı örneklerinden izole edilen kısa ince basillere "*Bacterium coli* commune" adı verilmiştir (12). Castellani ve Chalmer tarafından 1919'da *Escherichia coli* adı önerilmiş; 1958 yılında resmen bu isimle tanımlanmıştır (13)**.**

Sporsuz, çoğu hareketli, laktozu fermente edebilen, hidrojen sülfür (H_2S) oluşturmayan, triptofanaz enzimi bulunduran mikroorganizmalardır. Yaklaşık 2 µm uzunluğunda ve 1µm enindeki basillerdir. Buyyon, jeloz gibi zengin olmayan besiyerlerinde ürer. En iyi üremeyi 37°C ve nötral pH (7,2)'da gösterir. *E.coli* suşlarını diğer koliform mikroorganizmalardan ayırmak için; laktozdan asit ve triptofandan indol üretimini saptamak için yapılan testlerin 37°C ve 44°C'de olmak üzere iki farklı sıcaklık derecelerinde yapılması önerilir. Bu testlerden 44°C'de pozitif sonuç verenlerin *E.coli* olduğuna karar verilir (14).

E.coli besiyerlerinde, yuvarlak, sınırları düzgün, 1-2 mm çaplı, S tipi koloniler meydana getirir. Kolonileri MacConkey agarda pembe; "ksiloz-lisin-deoksikolat" agarda sarı; "eozin metilen blue " agarda metalik refle veren yeşil-siyah renklidir. *E.coli* suşlarının çoğu polisakkarit bir kapsüle sahiptir. *E.coli,* O (somatik), H (flagellar) ve K (kapsüler) yüzey antijenleri temelinde serotiplenir. Bazı kapsüller, *E.coli* 'nin patojen suşları ile ilişkili olup, K1 antijeni (polisiyalik asit) üretenlerin genellikle septisemi, idrar yolu enfeksiyonu ve menenjit ile ilişkili olduğu saptanmıştır (15).

E.coli, klinik laboratuvarlarda en yaygın rastlanılan bakteri türüdür ve hemen hemen her organ sisteminde enfeksiyona neden olmaktadır. Gram negatif sepsis ve endotoksin kaynaklı şokta yer alan yaygın mikroorganizmalardandır. İdrar yolu ve yara enfeksiyonları, bağışıklığı baskılanmış yatan hastalarda pnömoni ve yenidoğanlarda menenjit *E.coli*'nin neden olduğu diğer yaygın enfeksiyonlardır.

E.coli gastrointestinal kanalda çok miktarda bulunur. Bu mikroorganizmalar bağırsak perforasyonu nedeniyle periton boşluğuna girdiğinde fırsatçı patojen olabilse de, gastrointestinal ve ekstraintestinal hastalığa neden olan çoğu *E.coli,* plazmidler veya bakteriyofaj DNA'sında kodlanmış spesifik virülans faktörleri ile patojen hale gelirler. Toplumdan edinilmiş tüm idrar yolu enfeksiyonlarının %90'inden fazlasından sorumludur, hastane kaynaklı birçok enfeksiyon ve gastroenteritin en sık nedenlerindendir (16)**.**

İdrar yolu enfeksiyonuna neden olan çoğu gram negatif basil bağırsak florasından kaynaklanır, üretrayı kontamine eder, mesaneye yükselir ve böbreğe veya prostata göç edebilir. Çoğu *E.coli* suşu idrar yolu enfeksiyonu yapabilse de, hastalık belirli spesifik serogruplar ile daha yaygın olarak görülmektedir. Bu bakterilerin virülansları, mesaneyi ve üst üriner sistemi kaplayan hücrelere bağlanan adezinler (esas olarak P pili, AAF / I, AAF / III ve Dr) ve eritrosit gibi hücre tiplerini parçalayan hemolizin(HlyA) üretmeleri nedeniyle yüksektir (17)**.**

Ekstraintestinal enfeksiyonlara neden olabilen *E.coli* suşları, intestinal hastalığa neden olan ve intestinal patojenik *E.coli* (IPEC) olarak adlandırılan suşlardan ayırt edilmesi için ekstraintestinal patojenik *E.coli* (ExPEC) olarak adlandırılır. ExPEC sıklıkla idrar yolu enfeksiyonu, menenjit, septisemi ve yumuşak doku enfeksiyonuna neden olur. Üropatojenik *E.coli* (UPEC) suşları insan ve hayvanlarda idrar yolu enfeksiyonu ile ilişkilidir. Adezinler, toksinler, protektinler, sideroforlar, demir taşıma sistemleri ve invazinlerin üretimini kodlayan genler gibi çok çeşitli virülans faktörler ExPEC ile ilişkilendirilmiştir. Bu virülans faktörleri ekstraintestinal yaşamlarını mümkün kılmaktaktadır (18).

E.coli genomlarında otuz sekiz farklı CUP pilus operonu tanımlanmıştır ve tek bir üropatojen *E.coli* suşu 12'den fazla farklı CUP pili kodlayabilir. Üropatojen *E.coli* tarafından kodlanan çok sayıda CUP pili, bazıları mesane veya böbrek epitelinde olmak üzere stereokimyasal özgüllüğü olan reseptörleri tanıyarak alt ve üst idrar yollarında farklı tropizmler gösteren farklı adezinlerle sonlanır. Tip 1 pili ve piyelonefrit ile ilişkili (P) pili daha iyi karakterize edilen CUP pili'dir. Tip 1 pili, fare mesanesinde üropatojen *E.coli*'nin kolonizasyonu için gereklidir (3).

Ekstraintestinal *E.coli* suşları; yenidoğan menenjitine neden olan menenjit *E.coli* (MENEC) suşları; septisemi enfeksiyonlarına neden olan septisemi *E.coli*

(SEPEC) suşları; ve insanlarda mesane ve böbrek enfeksiyonlarında en sık saptanan üropatojenik *E.coli* (UPEC) suşları olarak üç tipte gruplandırılır. Enfeksiyon oluşumuna neden olan ve patojenik olmayan *E.coli* suşları adezinler gibi belirli virülans faktörlerinin ekspresyonu ile karakterize edilirler. S-fimbrial adezin ailesinin üyeleri sıklıkla erkeklerden izole edilen ekstraintestinal *E.coli* suşlarında eksprese edilir. Bu adezin ailesi, S-fimbriae (Sfa) ve SfaI ve SfaII alt tipleri ; F1C-fimbriae (Foc); ve S / F1C ile ilgili fimbrialar (Sfr)dır. Üropatojenik *E.coli* suşu 536'nın (O6: K15: H31) tip 1, P ile ilgili ve S-fimbrialar dahil olmak üzere çeşitli tipte fimbrial adezin ürettiği gösterilmiştir (19).

Tip 1 fimbrialar, *E.coli*'nin ve *Enterobacteriaceae* ailesinin diğer üyelerinin yüzeyinden dış ortama çıkan uzantılardır. Morfolojik olarak P fimbrialara benzerler. Bu fimbriyalar mannoza duyarlı adezinlerdir ve konak hücrelere tutunmaları D-mannoz çözeltisinde inhibe olur. FoseH yapışkan uç proteini yoluyla mannoz içeren oligosakaritlere bağlanırlar. Tip 1 fimbrialar idrar yolunun üropatojenik *E.coli* ile kolonize olması için gereklidir (20).

Üriner sistem enfeksiyonuna neden olan ekstra intestinal patojenik *E.coli* suşlarının sahip olduğu adezinlerden biri P fimbria olup tanımlanmış ilk virülans faktörüdür. Prototipik bir piyelonefrit suşu olan *E.coli* CFT073 genomunda 12 fimbrial operon bulunduğu; bu operonların ikisinin böbrek epiteli üzerindeki Gal-terminal globomeramid reseptörlerine bağlanan P fimbriayı kodladığı bilinmektedir. P fimbrialar böbreklerde kolonizasyon için gereklidir ve insan mesane epitel hücrelerine de tutunabilir (21).

İdrar yolu enfeksiyonu esnasında P fimbria'nın ilgili reseptörlere bağlanmasıyla bowman kapsül, proksimal tübül, Henle kulpunun çıkan kolu ve distal toplayıcı tübül hücrelerinde bulunan TLR4 yolağı aktifleşir. TLR4 aktifleşmesi mikroorganizmanın dokuya entegre olma özelliğini artırır. TLR'ler bakteriyel bileşenlerin tanınmasında ve çeşitli hücre içi sinyal yolakları ile enflamatuar yanıtın indüklenmesinde önemli role sahiptir (22).

F1C fimbria; üropatojenik *E.coli*'nin hücrelere yapışma özelliklerine katkıda bulunan adezinlerdir. Bu fimbrialar focA gen kümesi tarafından kodlanır (23).

E.coli'nin sahip olduğu dış zar proteinleri, kapsül ve lipopolisakaritler gibi virülans faktörleri de bakterilerin konak savunma mekanizmalarını atlatmasına ve

enfeksiyon oluşumuna neden olur. Lipopolisakkarit ve kapsülün serumun bakterisidal etkilerine direnç gösterdiği düşünülür (24).

Üropatojenik *Escherichia coli*'nin (UPEC) neden olduğu idrar yolu enfeksiyonu, özellikle kadınlar için önemli bir halk sağlığı sorunudur. Sadece Amerika Birleşik Devletleri'nde, yılda 7–11 milyon idrar yolu enfeksiyonu vakası raporlanmaktadır ve 3,5 milyar dolarlık maliyetle sonuçlanmaktadır. Sağlıklı bireylerdeki idrar yolu enfeksiyonlarının % 75-95 nedeni UPEC dir. UPEC'in neden olduğu idrar yolu enfeksiyonları, antibiyotik reçete edilen en yaygın endikasyonlardandır ve UPEC'de antibiyotik direncindeki hızlı artış, yeni nesil terapötik ajanların geliştirilmesini gerekli kılmaktadır (25).

2.1.1.3. Klebsiella pneumoniae

K.pneumoniae, hem toplum hem de hastane kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarında yaygın olarak karşılaşılan bir patojendir (26). Toplumdan edinilmiş idrar yolu enfeksiyonlarında *E.coli* den sonra en sık görülen ikinci etiyolojik ajandır. *K.pneumoniae*, çoklu ilaç direnci kazanma eğilimine sahip klinik olarak anlamlı bir patojendir, bu durum pnömoni, karaciğer apsesi, menenjit, kan dolaşımı enfeksiyonları ve idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisindeki terapötik seçenekleri sınırlandırmaktadır. Antibiyotiklere dirençli bakterilere yönelik yeni antibiyotiklerin araştırılması, keşfi ve geliştirilmesi için 2017 yılı Dünya Sağlık Örgütü'nün Küresel Öncelik Listesi'nde yer alan uluslararası endişe verici ilk üç patojenden biridir (27). Bu cinsin en sık izole edilen üyeleri, toplum ya da hastane kaynaklı primer lober pnömoniye neden olan *K. pneumoniae* ve *K.oxytoca*'dır. Bu bakteriler ayrıca yara ve yumuşak doku enfeksiyonları ve idrar yolu enfeksiyonlarına da neden olur (28). Enfeksiyon sırasında konak immünitesinden kaçmak için kapsül polisakkaritler, adezinler ve demir alım mekanizmaları gibi çeşitli virülans faktörlerini kullanır (27).

Primer izolasyon besiyerlerinde mukoid büyük koloniler saptandığında *Klebsiella* türünden şüphelenilmelidir. MacConkey agarda, tipik olarak büyük, mukoid ve mor koloniler olarak görünür, bu da laktozun fermentasyonunu ve asit üretimini gösterir. *K.pneumoniae* indol negatif ve *K.oxytoca* indol pozitiftir (29).

Klebsiella cinsi bakteriler kolonilerine mukoid görünüm kazandıran ve virulanslarından sorumlu olan bir kapsüle sahiptir (28). Patojenitesi; fimbria, toksinler, demir taşıma sistemleri, lipopolisakkarit ve kapsül gibi çeşitli virülans faktörlerinin ekspresyonu nedeniyledir. Mannoz duyarlı ve mannoz dirençli hemaglutinasyon pili olan Fimbriae tip 1 ve tip 3, *K. pneumoniae*'nin idrar yolunda yapışma ve kolonizasyonunda önemli rol oynamaktadır.

Kapsül, konakçı immun sisteminden kaçışta *K.pneumoniae* izolatlarının ana virülans faktörleri arasındadır. Mukovizkoziteye bağlı A genini (magA) içeren K1 ve K2 kapsüler serotipleri, şiddetli idrar yolu enfeksiyonları ile ilişkilidir (26).

2.2.FOSFOMİSİN

Streptomyces fradiae'dan üretilen bakterisidal bir antibiyotik olan fosfomisin, 1969'da İspanyol Penisilin ve Antibiyotik Şirketi'nden bir İspanyol ekibi tarafından keşfedilmiştir. O zamandan beri, fosfomisin, hem intravenöz (disodyum tuzu) hem de oral formülasyonlarda (kalsiyum tuzu veya trometamol) çeşitli endikasyonlar için birçok ülkede kullanılmaktadır (30).

Fosfomisin duyarlılık testleri karmaşıktır ve hataya açıktır. Gram-pozitif ve Gram negatif patojenlerin fosfomisine in vitro duyarlılığının saptanması amacıyla agar dilüsyon, sıvı mikrodilüsyon, disk difüzyonu ve Etest teknikleri kullanılabilir. Agar dilüsyon yönteminde ve sıvı mikrodilüsyon yönteminde glukoz-6-fosfat ilavesi fosfomisinin bakteri hücresine girişini artırır, böylece enfeksiyon bölgesindeki fizyolojik durumuna benzer bir ortam sağlanır. MİK değeri düşer ve teorik değere yakın bir sonuç elde edilmiş olur. Bu nedenle, 25 mg/L glukoz-6 fosfat ile takviye edilmiş Mueller-Hinton agar veya sıvı besiyeri kullanılması önerilmektedir.

Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) kriterlerine göre, idrarda izole edilen *E. coli* ve *E. faecalis* izolatları için onaylanmış duyarlılık test yöntemi disk difüzyon ve agar dilüsyon yöntemidir. Sıvı mikrodilüsyon yapılması önerilmemektedir. EUCAST referans yöntem olarak agar dilusyonu ve sadece *E.coli* için disk difüzyon yöntemi ile duyarlılık saptanmasını önermektedir (31).

EUCAST ve CLSI rehberlerinde fosfomisin MİK değerlendirme kriterlerinde farklılık bulunmaktadır. EUCAST da ≤32 MİK değerleri duyarlı, >32 MIK değerleri dirençli olarak değerlendirilirken, CLSI'da ≤64 MIK değerleri

duyarlı, ≥256 MIK değerleri dirençli,128 ise intermediate olarak değerlendirilir (Tablo 1)(32).

Tablo 1: CLSI ve EUCAST fosfomisin duyarlılık değerlendirme kriterleri

		DD zon çapı yorumlama kriteri (200 µg fosfomisin+50 µg G6P)			MİK yorumlama kriteri (mg/L)		
		S	I	R	S	I	R
CLSI	E.coli (idrar) →Disk difüzyon ve agar MİK	≥16	13-15	≤12	≤64	128	≥256
EUCAST	E.coli→Disk difüzyon diğer→agar MİK	≥24		<24	≤32		>32

Fosfomisin, peptidoglikan sentezinin ilk aşamasını engelleyen tek bir etki mekanizmasına sahiptir. Fosfomisinin bakterinin iç kısmına taşınması gliserol-3-fosfat taşıyıcı (GlpT) ve glikoz-6-fosfat taşıyıcı (UhpT) permeazlarla gerçekleştirilir. GlpT, başlangıçtaki aktivitesini uyarılmadan sürdürürken, UhpT, G6P'nin yokluğunda aktive olamaz. Fosfomisin bakterinin içine girdikten sonra, N-asetilglukozamin ve fosfoenolpiruvatın bağlanmasıyla N-asetilmuramik asit (peptidoglikan öncüsü) oluşumunu katalize eden UDP-N-asetil glukosamin enolpiruvil transferaz (MurA) enzimini inhibe eder. Fosfomisin, bir epoksit halkası ve bir fosfonik grup ile bir fosfoenolpiruvat analoğudur.

Fosfomisin, gram negatif ve gram pozitif bakterilere, ESBL içeren *Enterobacteriaceae* ailesine karşı bakterisid etkilidir. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, metisiline dirençli koagülaz negatif stafilokoklar, vankomisine dirençli enterokoklar, penisiline dirençli *Streptococcus pneumoniae*, ESBL üreten *Enterobacteriaceae*, karbapenemaz üreten *Enterobacteriaeceae*, çoklu ilaca dirençli *P.aeruginosa* gibi patojenlerle oluşan enfeksiyonların tedavisinde kullanılmıştır (30).

Antimikrobiyallere karşı direncin artması göz önüne alındığında, komplike olmayan alt idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisi için 2010 yılında rehberler tarafından nitrofurantoin ve fosfomisinin birinci basamak ajanlar olarak kullanılması önerilmiştir ve kullanımları o zamandan beri katlanarak artmaktadır (33).

Etkinliğine ve güvenliğine dayanarak, 2011 yılında Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği (IDSA) klinik uygulama kılavuzları, komplike olmayan idrar yolu enfeksiyonları için birinci basamak tedavi olarak tek doz fosfomisini onaylamıştır. Fosfomisin, çoklu ilaca dirençli mikroorganizmaların neden olduğu hem komplikasyonsuz hem de komplike idrar yolu enfeksiyonu tedavisi için çoklu doz rejimlerinde kullanılmıştır. Fosfomisin, oral kullanılabilirliği, iyi tolere edilebilirliği, düşük direnç oranlarına sahip olması ve diğer ilaçlarla etkileşiminin çok nadir olması nedeniyle kabul edilebilir bir tedavi alternatifi sağlar (34).

2.2.1. Fosfomisin Direnç Mekanizmaları

Fosfomisin, MurA enziminin 115. Sistein aminoasidine geri dönüşümsüz olarak bağlanmaktadır. Bu bağlanma sonucunda MurA enzimi inhibe olarak UDP-NAMA oluşumu önlenmektedir ve antibakteriyel etkinliğini, peptidoglikan tabakasının sentezini engelleyerek göstermektedir. Yapılan çalışmalarda, fosfomisinin duyarlı bakteriler üzerinde bakterisidal etkinliğini, 30 dakika içinde gösterdiğini ortaya koymuştur.

Fosfomisin ayrıca, bakteri fimbrialarının sentezini ve hareketini azaltarak hem gram pozitif hem de gram negatif üropatojenlerin üriner sistem epiteline ve idrar kateterlerinin iç yüzeyine yapışmasını ve kolonizasyonunu engellemekte, antiadezif etki oluşturabilmektedir (35). MurA'ya fosfomisinin bağlanmasını önleyen aktif MurA bölgesinde sistein → aspartat ile yer değiştirmesi fosfomisine doğal direnç kazandırır.

2.2.1.1.Mur A ile ilişkili Kazanılmış Direnç

E.coli'de MurA'nın 115. pozisyonundaki sistein yerine aspartat geçtiğinde, duyarlı izolatları fosfomisine karşı oldukça dirençli hale getiren bir mutasyon tarif edilmiştir. MurA'daki (Asp369Asn ve Leu370lle) diğer amino asit yer değişiklikleri de fosfomisin direnciyle ilişkilendirilmiştir (36).

2.2.1.2.Antibiyotik Modifikasyonu İlişkili Kazanılmış Direnç

Genellikle fosfomisine duyarlı olan *E.coli* gibi bakterilerde, bakterilerin içine fosfomisinin girişini sağlayan alım sistemlerinde mutasyonlar meydana geldiğinde direnç gelişir. Fosfomisin taşıyıcılarını kodlayan kromozomal glpT ve uhpT genlerindeki mutasyonlar, fosfomisin alımının engellenmesine veya azalmasına neden olur. Kodlanan proteinler, *E. coli* ve diğer bakterilerde metabolik fonksiyonlar veya virülans için gerekli olan gliserol veya karbonhidrat taşıyıcılarıdır. CyaA ve ptsI genlerindeki mutasyonlar(daha düşük cAMP seviyeleri ve fosfomisin taşıyıcılarının down regülasyonu ile sonuçlanan) da tanımlanmış ve pilus biyosentezinde azalma ve epitelyal hücrelere yapışabilme kabiliyeti ile ilişkilendirilmiştir. MurA'daki mutasyonlar, fosfomisin için enolpiruvil transferazın daha düşük afinitesiyle sonuçlanırken, enolpiruvil transferazın aşırı ekspresyonunun da fosfomisin direnciyle sonuçlandığı gösterilmiştir. Birkaç fosfomisin değiştirici enzim tarif edilmiştir (31).

Fosfomisin direnci, antibiyotiği inaktive eden plazmidle kodlanan genlerin alınmasıyla da gelişir. Plazmid aracılı Fos enzimleri glioksalaz süper familyasına aittir. Bu mekanizma ilk olarak FosA tarafından kodlanan metaloenzim glutatyon S-transferaz için tanımlanmıştır. Glutatyon S transferaz, antibiyotiğin epoksit grubunu açıp fosfomisinin epoksit halkasının C1'ine tripeptidglutatyonsisteinin sülfidril grubunu ekleyerek fosfomisini etkisiz hale getirir. FosA geni çoğunlukla *Enterobacteriaceae, Pseudomonas spp.* ve *Acinetobacter spp*'de bulunur. FosA yapısına sahip FosA2, FosA3, FosA5 ve FosA6 gibi yeni subtipler tanımlanmıştır (36). FosB de, gram pozitif bakterilerdeki reaksiyonu katalize eden benzer bir enzimdir (aminoasit sekansı FosA'nın kine %48 özdeştir). *Pseudomonas syringae*'de bulunan FosC, fosfomisinin inaktivasyonunu katalize eden glutatyon S transferaza benzer bir enzimdir (31).

2.3.ANTİBİYOTİK DUYARLILIK YÖNTEMLERİ

2.3.1.Disk Difüzyon Yöntemi

Disk difüzyon yöntemi, kullanım kolaylığı ve düşük maliyeti nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Dilüsyon yöntemlerinden farklı olarak, bir minimum inhibitör konsantrasyon değeri üretilmez, ancak ilaç inhibisyon bölgesindeki zon

çapı, duyarlılık kategorisini tahmin etmek için aynı suşun MİK değerleriyle karşılaştırılır.

2.3.2.Gradient Difüzyon Yöntemi

Gradient difüzyon yöntemi, agar yüzeyine yerleştirilen antimikrobiyal ajan emdirilmiş şeritlerden oluşur ve disk difüzyon testiyle aynı prensipleri kullanır. MİK değerleri, şerit boyunca test edilecek bir antibiyotik gradyanı uygulanarak oluşturulur. Şeritteki antibiyotik gradienti, 15 farklı antibiyotik konsantrasyonunun uygulanmasıyla elde edilir.

2.3.3.Agar Dilüsyon Yöntemi

Agar dilüsyon yönteminde bakteri süspansiyonu, her biri farklı konsantrasyonda antimikrobiyal ajan içeren agar plaklarına inoküle edilir. Agar plaklarında bulunan antibiyotik konsantrasyonuna duyarlı olan mikroorganizmalar, inokülum bölgesinde üreme göstermezken, dirençli mikroorganizmalar inokülum bölgesinde üreme göstermektedir.

2.3.4.Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi

Sıvı mikrodilüsyon yönteminde mikroorganizmaların antimikrobiyal ajanlara duyarlılığı plastik bir plak içine dizilmiş mikro kuyucuklarda belirlenir. Her plak, duyarlılık testi paneline dahil edilecek antimikrobiyal ajanların sayısına ve konsantrasyonuna bağlı olarak 80, 96 veya daha fazla mikro kuyucuk içerebilir.(37)

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1.GEREÇLER

3.1.1.Çalışmaya Alınan Örnekler

Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına 01.06.2019 – 31.12.2019 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gönderilen idrar örneklerinden üriner sistem enfeksiyon etkeni olarak izole edilen toplam 100 adet *E.coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşu çalışmaya dahil edilmiştir.

3.1.2.Kullanılan besiyerleri ve malzemeler:

1)%5 Koyun Kanlı Agar (BioMerieux, Fransa)
2)Mueller-Hinton Agar (Condalab, İspanya)
3)Fosfomisin disodyum salt hidrat(Sigma-Aldrich, ABD)
4)d-Glikoz 6-fosfat disodyum salt hidrat (Sigma-Aldrich, ABD)
5)%0,9 Serum Fizyolojik
6)Distile su

3.1.3. Kullanılan cihazlar ve aletler:

1)Etüv
2)Otoklav
3)Pastör fırını
4)Buzdolabı
5)Hassas terazi
6)Vortex
7)McFarland Cihazı
8)Mezür (250 ml, 500 ml)
9)Balon joje (250 ml, 1000 ml)
10)Steril Petri (90ml, 20ml)
11)Steril tüp
12)Steril eküvyon
13)Steril plastik öze (10 µl)
14)Otomatik pipet (2µl, 100µl, 1000µl)

15)Maldi-TOF MS (bioMerieux, Fransa)

16)Vitek-2 (bioMerieux, Fransa)

3.2. YÖNTEMLER

3.2.1. Suşların Toplanması

Çalışmaya idrar kültürü örneklerinden izole edilmiş, MALDI-TOF MS (bioMerieux, Fransa) ile tanımlanmış ve otomatize sıvı mikrodilüsyon sistemi (Vitek-2, BioMerieux, Fransa) ile antibiyotik duyarlılık testleri yapılmış toplam 100 adet *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşu dahil edilmiştir. Agar dilüsyon testinin tüm izolatlar için aynı şartlar altında yapılması amacıyla saf kültür olarak elde edilen izolatlar daha sonra kullanılmak üzere %20 gliserollü Tryptic Soy Broth besiyerine alınarak -20°C 'de stoklanmıştır.

3.2.2. İzolatların Hazırlanması

Stok besiyerinden %5 koyun kanlı agara ekim yapılarak canlandırılan taze kültürden bakteri kolonileri alınarak doğrudan koloni süspansiyon yöntemi ile steril serum fizyolojik içerisinde 0,5 McFarland bulanıklığa (1,5-2x10^8 koloni oluşturan birim; KOB/mL) eşit süspansiyon hazırlanmıştır. McFarland ayarı densichek (bioMerieux, Fransa) optik okuyucu kullanılarak otomatik olarak yapılmıştır.

3.2.3. Antibiyotik Stok ve Çalışma Solüsyonlarının Hazırlanması

Agar dilüsyon testi için toz halindeki fosfomisin disodyum salt hidrat (Sigma-Aldrich, ABD) ve antibiyotik dilüenti olarak steril distile su kullanılmıştır. Çalışmanın 0,25 mg/L-1024 mg/L dilüsyon aralığında yapılması planlanmıştır. Öncelikle aşağıda yer alan hacim/ağırlık/potens formülü uyarınca steril şartlarda tartılan 409,6 mg fosfomisin steril 40 ml distile suda çözündürülerek fosfomisin stok solüsyonu (10240 mg /L fosfomisin bulunan) hazırlanmıştır.

$$\mathbf{Hacim(ml)} = \frac{\mathbf{Ağırlık(mg)xPotens}(\frac{\mu g}{mg})}{\mathbf{Konsantrasyon}(\frac{\mu g}{ml})}$$

Stok solüsyondan seri sulandırımlar yapılarak çalışma solüsyonları hazırlanmıştır.

3.2.4. Agar Besiyerinin Hazırlanması

Mueller Hinton Agar (Condalab, İspanya) firma önerileri doğrultusunda hazırlanarak 1 atm basınçta 121 C' sıcaklıkta 15 – 20 dakika otoklavda (Sanyo, Japonya) sterile edildikten sonra soğutulmuş ve 45-50 ^{o}C'lik su banyosunda sabit sıcaklıkta agar plakları dökülene kadar bekletilmiştir.

3.2.5. Petrilerin Hazırlanması

Yapılacak dilusyon sayısı (0,25 mg/L-1024 mg/L=13 dilüsyon) kadar petri plağı alınarak petrilerin üzerine antibiyotik konsantrasyonları not edilmiştir. Her bir plağa 16 bakteri izolatı ekim yapılması planlanarak daha sonra duyarlılık sonuçlarının okunmasını ve takibi kolaylaştırmak adına petri arka kısmı çizilerek bölmelere ayrılmıştır. Mueller-Hinton agar plakları dökülmeden önce içerisine glukoz-6-fosfat (25 mg/L) eklenmiştir (38).

Her bir plağa 1 kısım antibiyotik solüsyonu (16 mL)+9 kısım agar (144 mL) eklenerek (antibiyotik 1/10 dilue olmuş olur) iyice karıştırıldıktan sonra ortalama 4 mm kalınlıkta olacak şekilde (20 mL agar/ antibiyotik karışımı) agar plaklara dökülmüştür. Böylece petrilerde uygun (0,25 mg/L-1024 mg/L) son antibiyotik konsantrasyonu elde edilmiştir.

3.2.6. Agar Dilüsyon Yöntemi

Agar dilüsyon, EUCAST tanımlayıcı dökuman 3.1 kılavuz önerileri doğrultusunda yapılmıştır (39).

Agar dilüsyon prosedürüne göre petri yüzeyindeki son bakteri konsantrasyonunun 10^4 KOB/ml olması gerekmektedir. Bunun için öncelikle 0,5 MacFarland bakteri süspansiyonu 1:10 oranında sulandırılarak 10^7KOB/mL bakteri yoğunluğu elde edilmiştir. Daha sonra ise otomatik pipet yardımıyla tüpten 2µl bakteri solüsyonu alınarak ekim yapıldığında agar plağındaki son bakteri konsantrasyonunun 10^4KOB/mL olması sağlanmıştır. Bakteri ekimleri düşük antibiyotik konsantrasyonu içeren plaktan başlanarak daha yüksek antibiyotik konsantrasyon içeren petrilere doğru yapılmıştır. Oda sıcaklığında inokülum alanları kuruduktan sonra petriler ters çevrilerek 35±2 °C olan etüvde 18±2 saat inkübasyona bırakılmıştır.

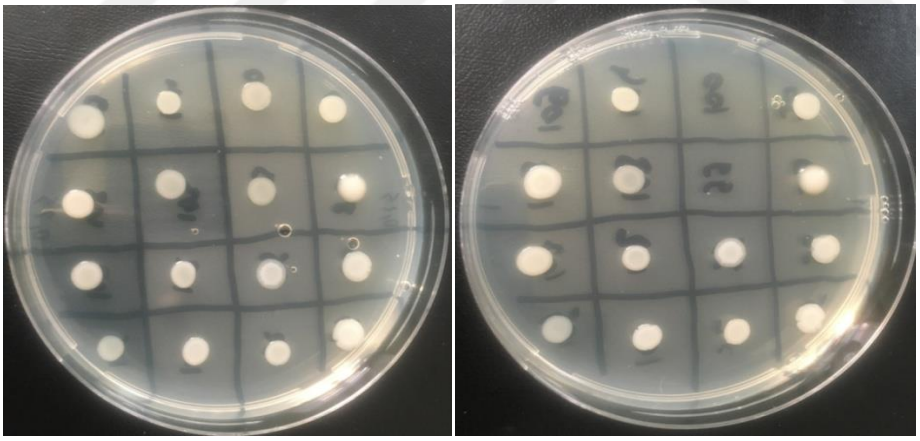
3.2.7. Kalite Kontrol Suşlarının Çalışılması

Antibiyotik içermeyen agar plaklarına yapılan bakteri ekimleri ile besiyeri ve izolatların üreme kontrolü yapılmıştır.

Agar dilüsyon testinin kalite kontrolü *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 suşları kullanılarak yapılmıştır.

3.2.8. MİK Sonuçlarının Değerlendirilmesi

İnkübasyon sonrasında sonuçlar birbirinden bağımsız olarak çift göz kontrollü olarak değerlendirilmiştir. Üremenin engellendiği en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK olarak belirlenmiştir (Şekil:1). Minimum inhibisyon konsantrasyon sonuçları EUCAST v.10.0önerilerine göre değerlendirilerek MİK ≤32 mg/L olan değerler duyarlı, >32 mg/L olan değerler ise dirençli olarak yorumlanmıştır (40).



Şekil 1:Agar plaklarında fosfomisin MİK sonuçlarının değerlendirilmesi

3.2.9. Test Performansının Değerlendirilmesi

Vitek-2 sonuçlarının referans yöntemle uyum ve hata oranları aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır.

Temel Uyum (TU) : MİK değerleri ±1dilusyon içinde olan karşılaştırmaların sayısı /toplam test sonuçlarının sayısıx100

Kategorik Uyum(KU) :Örtüşen kategorik sonuç sayısı (S,R)/toplam test sonuçlarının sayısıx 100

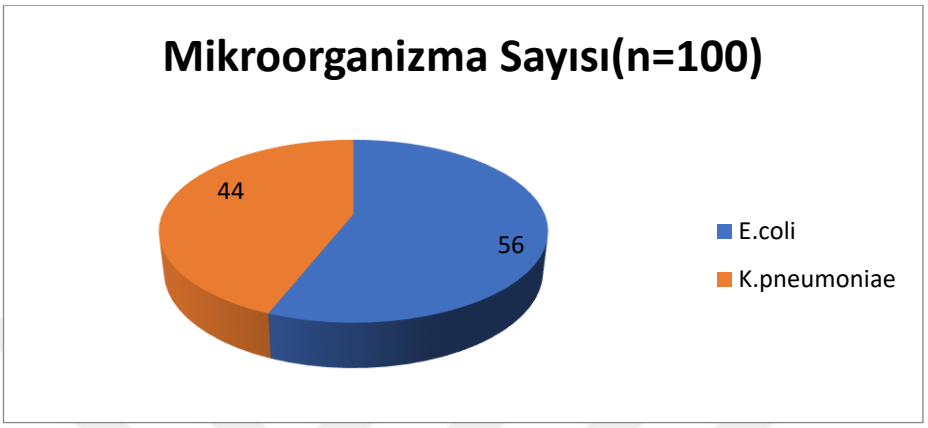
Büyük Hata (BH) :BH uyumsuz sonuç sayısı/ Referans yöntemle duyarlı saptanan sonuç sayısıx100

Çok Büyük Hata(ÇBH):ÇBH uyumsuz sonuç sayısı/Referans yöntemle dirençli saptanan sonuçsayısıx100

Uyum ve hata oranları ISO kriterlerine göre değerlendirilmiştir. (TU ve KU ≥% 90;BH ve ÇBH <% 3)(41)

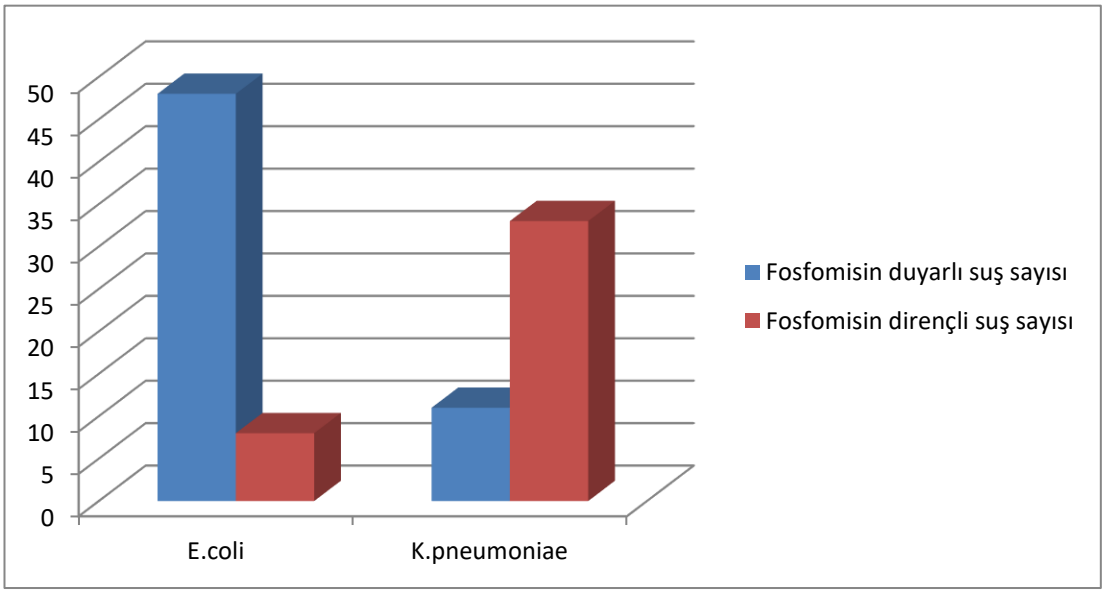
4.BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen toplam 100 suşun dağılımı Şekil 2'de gösterilmiştir.



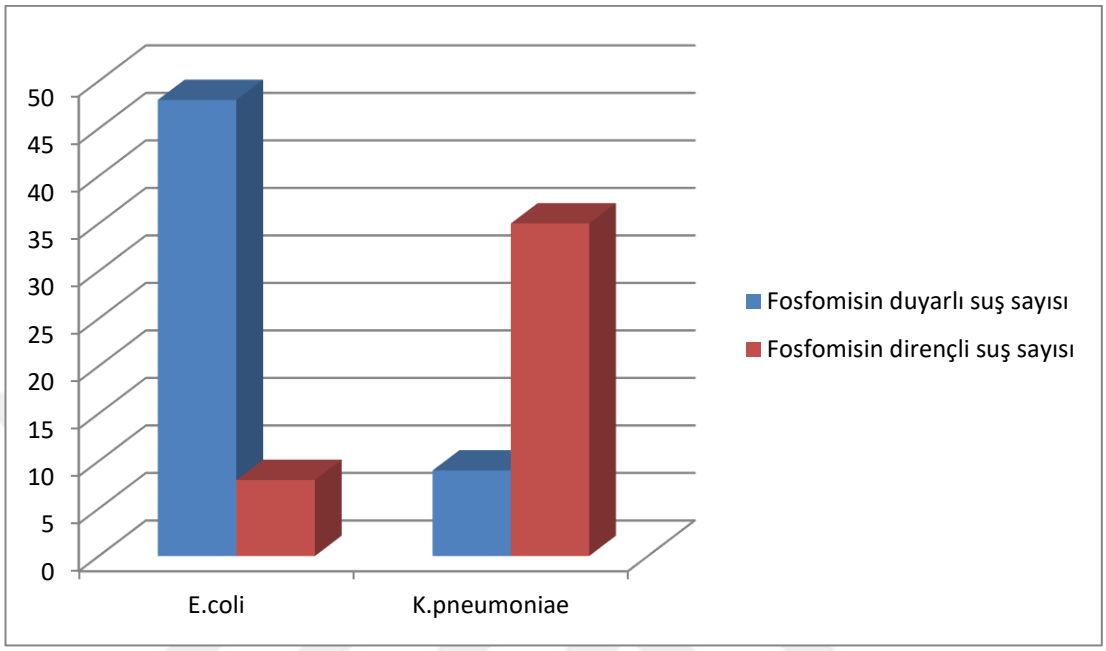
Şekil 2: Çalışmaya dahil edilen suşların dağılımı

Agar dilüsyon yöntemi ile 56 adet *E.coli* suşunun %85,7'si, 44 adet *K.pneumoniae* suşunun %25'i fosfomisin duyarlı bulunmuştur (Şekil 3).



Şekil 3**:** *E.coli* ve *K.pneumoniae* için agar dilüsyon yöntemi ile elde edilen fosfomisin duyarlı ve dirençli suş sayıları

Rutin çalışma prosedürümüzde kullandığımız Vitek-2 otomatize sıvı mikrodilüsyon sistemi ile 56 adet *E.coli* suşunun %85,7'si, 44 adet *K.pneumoniae* suşunun %20,5'i fosfomisin duyarlı bulunmuştur (Şekil 4).



Şekil 4:*E.coli* ve *K.pneumoniae* için Vitek-2 ile elde edilen fosfomisin duyarlı ve dirençli suş sayıları

E.coli ve *K.pneumoniae* izolatları için agar dilüsyon yöntemi ve otomatize sıvı mikrodilüsyon yöntemi(Vitek-2) ile saptanan fosfomisin MİK değerleri Tablo 2 ve Tablo 3 de özetlenmiştir.

Tablo 2: *E.coli* suşlarının agar dilüsyon yöntemi ve otomatize sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanan fosfomisin MİK değerleri

		Fosfomisin MİK (mg/L)	
İzolat No	Bakteri Cinsi	Agar Dilüsyon	Otomatize Sıvı Mikrodilüsyon
1	*E.coli*	0,5	<=16
2	*E.coli*	0,5	<=16
3	*E.coli*	0,5	<=16
4	*E.coli*	1	<=16
5	*E.coli*	1	<=16
6	*E.coli*	1	<=16
7	*E.coli*	1	<=16
8	*E.coli*	1	<=16
9	*E.coli*	1	<=16
10	*E.coli*	1	<=16
11	*E.coli*	1	<=16
12	*E.coli*	1	<=16
13	*E.coli*	1	<=16
14	*E.coli*	1	<=16
15	*E.coli*	1	<=16
16	*E.coli*	1	<=16
17	*E.coli*	1	<=16
18	*E.coli*	1	<=16
19	*E.coli*	1	<=16
20	*E.coli*	1	<=16
21	*E.coli*	1	<=16
22	*E.coli*	1	<=16
23	*E.coli*	2	<=16
24	*E.coli*	2	<=16
25	*E.coli*	2	<=16
26	*E.coli*	2	<=16
27	*E.coli*	2	<=16
28	*E.coli*	2	<=16
29	*E.coli*	2	<=16
30	*E.coli*	2	<=16
31	*E.coli*	2	<=16
32	*E.coli*	2	<=16
33	*E.coli*	2	<=16
34	*E.coli*	2	<=16
35	*E.coli*	4	<=16
36	*E.coli*	4	<=16
37	*E.coli*	4	<=16
38	*E.coli*	4	<=16
39	*E.coli*	4	<=16
40	*E.coli*	4	<=16

		Fosfomisin MİK(mg/L)	
İzolat No	Bakteri Cinsi	Agar Dilüsyon	Otomatize Sıvı Mikrodilüsyon
41	*E.coli*	4	<=16
42	*E.coli*	4	<=16
43	*E.coli*	4	<=16
44	*E.coli*	4	<=16
45	*E.coli*	8	<=16
46	*E.coli*	8	<=16
47	*E.coli*	16	<=16
48	*E.coli*	16	<=16
49	*E.coli*	128	64
50	*E.coli*	128	64
51	*E.coli*	128	128
52	*E.coli*	128	128
53	*E.coli*	512	>=256
54	*E.coli*	1024	>=256
55	*E.coli*	1024	>=256
56	*E.coli*	>1024	>=256

Tablo3: *K.pneumoniae* suşlarının agar dilüsyon yöntemi ve otomatize sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanan fosfomisin MİK değerleri

		Fosfomisin MİK (mg/L)	
İzolat No	Bakteri Cinsi	Agar Dilüsyon	Otomatize Sıvı Mikrodilüsyon
1	*K.pneumoniae*	4	<=16
2	*K.pneumoniae*	8	<=16
3	*K.pneumoniae*	8	<=16
4	*K.pneumoniae*	16	<=16
5	*K.pneumoniae*	16	<=16
6	*K.pneumoniae*	16	<=16
7	*K.pneumoniae*	16	<=16
8	*K.pneumoniae*	32	32
9	*K.pneumoniae*	32	64
10	*K.pneumoniae*	32	<=16
11	*K.pneumoniae*	**32**	**64**
12	*K.pneumoniae*	64	64
13	*K.pneumoniae*	64	64
14	*K.pneumoniae*	64	64
15	*K.pneumoniae*	64	128
16	*K.pneumoniae*	64	128
17	*K.pneumoniae*	64	64
18	*K.pneumoniae*	64	64
19	*K.pneumoniae*	64	>=256
20	*K.pneumoniae*	64	128
21	*K.pneumoniae*	64	>=256
22	*K.pneumoniae*	64	>=256
23	*K.pneumoniae*	128	>=256
24	*K.pneumoniae*	128	>=256
25	*K.pneumoniae*	128	64
26	*K.pneumoniae*	128	128
27	*K.pneumoniae*	128	64
28	*K.pneumoniae*	128	64
29	*K.pneumoniae*	128	64
30	*K.pneumoniae*	128	128
31	*K.pneumoniae*	256	64
32	*K.pneumoniae*	256	>=256
33	*K.pneumoniae*	1024	>=256
34	*K.pneumoniae*	1024	>=256
35	*K.pneumoniae*	1024	>=256
36	*K.pneumoniae*	1024	>=256
37	*K.pneumoniae*	1024	>=256
38	*K.pneumoniae*	1024	>=256
39	*K.pneumoniae*	1024	>=256
40	*K.pneumoniae*	>1024	>=256

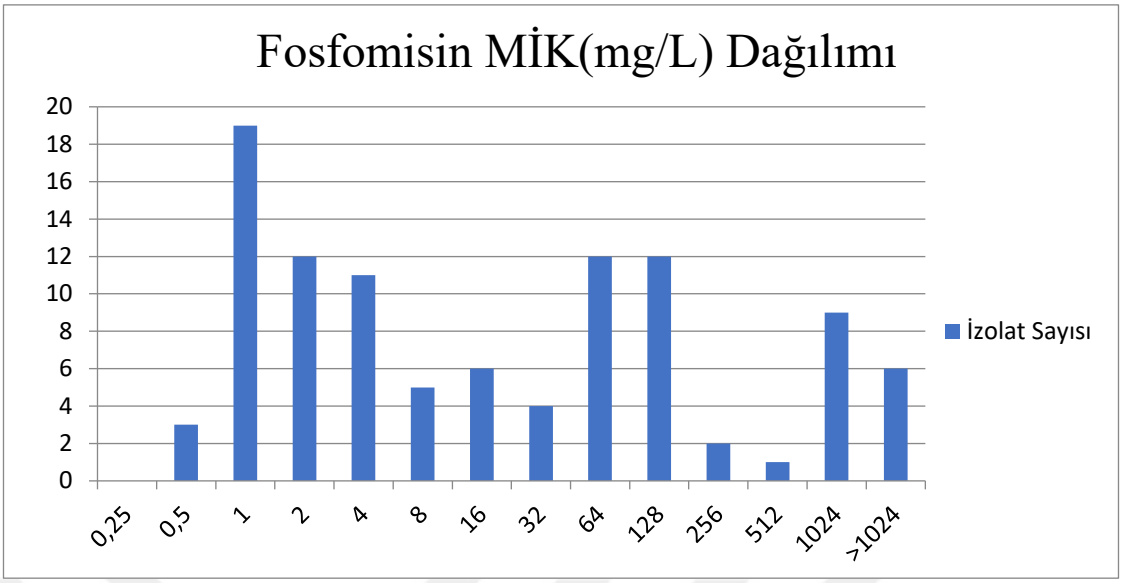
		Fosfomisin MİK (mg/L)	
İzolat No	Bakteri Cinsi	Agar Dilüsyon	Otomatize Sıvı Mikrodilüsyon
41	*K.pneumoniae*	>1024	>=256
42	*K.pneumoniae*	>1024	>=256
43	*K.pneumoniae*	>1024	>=256
44	*K.pneumoniae*	>1024	>=256

Tablo 4: Kalite kontrol suşlarının agar dilüsyon yöntemi ile saptanan fosfomisin MİK değerleri

Kalite Kontrol Suşları	Agar Dilüsyon MİK Sonucu	MİK Aralık (mg/L)
E.coli ATCC25922	1	0.5-2 *
P.aeruginosa ATCC27853	8	2-8 *
S.aureus ATCC29213	1	0.5-4 *
E.faecalis ATCC29212	64	32-128 **

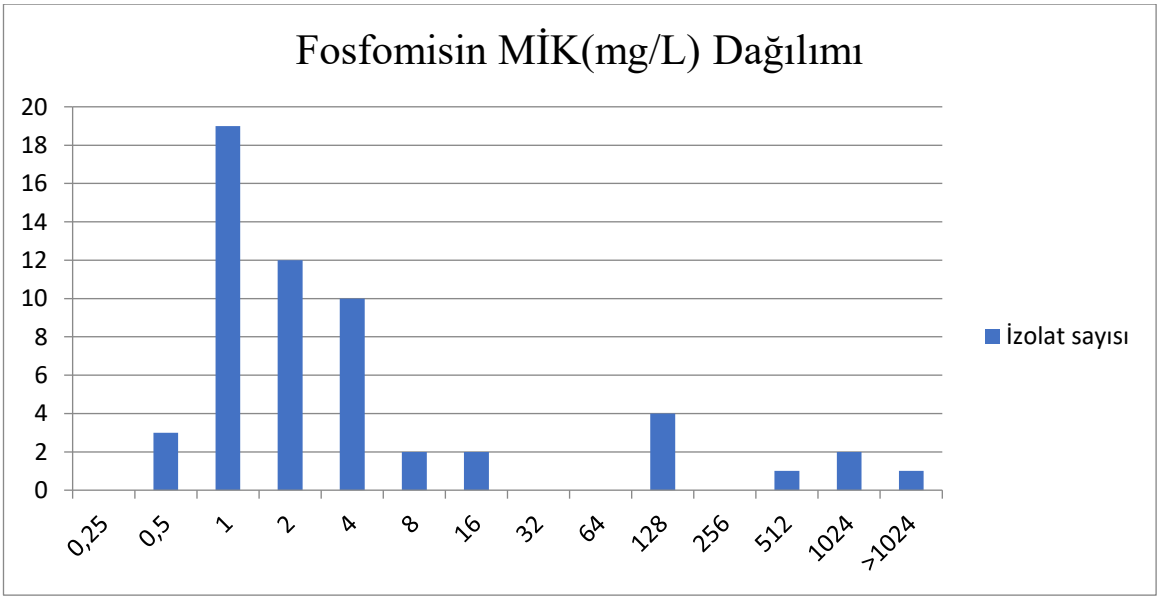
*EUCAST

**CLSI

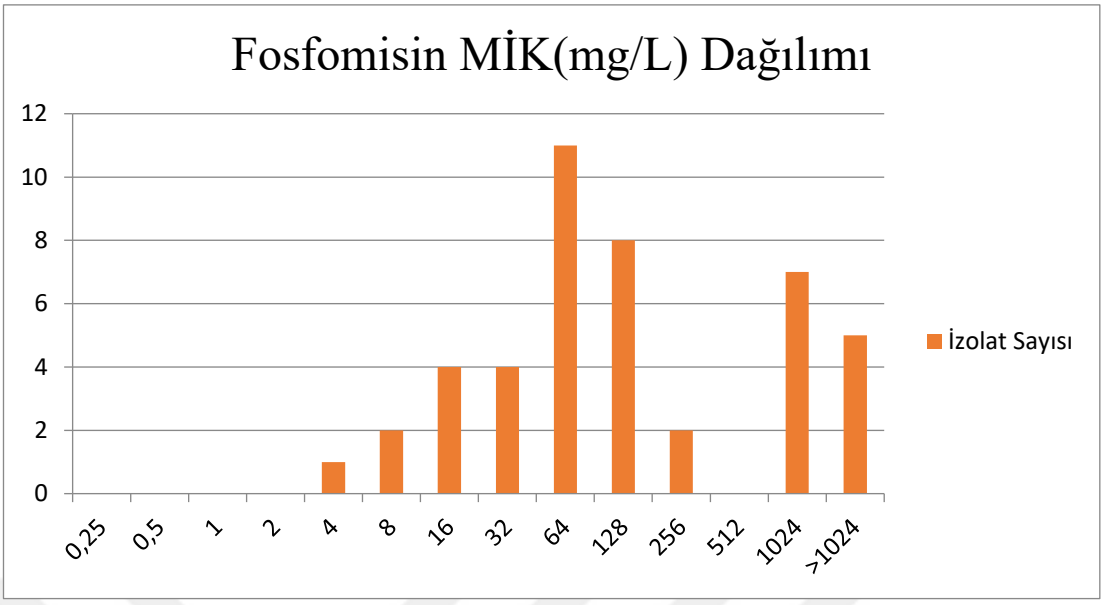


Şekil 5: Çalışma kapsamına alınan tüm suşların agar dilüsyon yöntemiyle saptanan fosfomisin MİK değerlerinin dağılımı

Agar dilüsyon yöntemi ile fosfomisin MİK değerleri saptanan 100 suşun $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri 16 mg/L ve 1024 mg/L bulunmuştur (Şekil 5).



Şekil 6: *E.coli* suşlarının agar dilüsyon yöntemiyle saptanan fosfomisin MİK değerlerinin dağılımı



Şekil 7: *K.pneumoniae* suşlarının agar dilüsyon yöntemiyle saptanan fosfomisin MİK değerlerinin dağılımı

E.coli suşlarının MİK dağılımı incelendiğinde yoğunluğun 1mg/L'de olduğu gözlenmiştir. *E.coli* için $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri 2 mg/L ve 128 mg/L olarak bulunmuştur (Şekil 6).

K.pneumoniae suşlarının MİK dağılımı incelendiğinde yoğunluğun 64 mg/L'de olduğu gözlemlenmektedir. *K.pneumoniae* için $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri 64 mg/L ve 1024 mg/L olarak bulunmuştur (Şekil 7).

Vitek-2 sonuçlarının referans yöntemle KU uyum oranları *E.coli* suşları için %100, *K.pneumoniae* suşları için %95,5, toplam 100 suş için %98 olarak bulunmuştur. Sonuçlar Tablo:5' de gösterilmiştir.

Otomatize mikrodilüsyon sisteminde 16'dan küçük olan ve 256'dan büyük olan fosfomisin MİK değerleri tam olarak verilmemekte, ≤16 ve ≥256 olarak verilmektedir. Bu nedenle temel uyum hesaplanırken otomatize mikrodilüsyon sisteminde MİK değeri ≤16 ve ≥256 olan suşlar değerlendirmeye alınmamış sadece tam MİK değeri olan suşlar üzerinden TU hesaplanmıştır. TU; *E.coli* için %100, *K.pneumoniae* için %94,4, toplam %95,5 olarak bulunmuştur. Sonuçlar Tablo 6' da gösterilmiştir.

Tablo 5: Vitek-2 otomatize sıvı mikrodilüsyon sistem sonuçlarının referans yöntemle kategorik uyumu

Yöntem	Kategorik Uyum (n=%)		
	E.coli	*K.pneumoniae*	Toplam
Otomatize Sıvı Mikrodilüsyon	56/56 (%100)	42/44 (%95,5)	98/100 (%98)

Tablo 6: Vitek-2 otomatize sıvı mikrodilüsyon sistem sonuçlarının referans yöntemle temel uyumu

Yöntem	Temel Uyum (n=%)		
	E.coli	*K.pneumoniae*	Toplam
Otomatize Sıvı Mikrodilüsyon	4/4 (%100)	17/18 (%94,4)	21/22 (%95,5)

Çalışma sonucunda agar dilüsyon yönteminde fosfomisin duyarlı olup otomatize sıvı mikrodilüsyon yönteminde fosfomisin dirençli bulunan suşlar BH olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda *E.coli* suşlarında BH saptanmamış; iki *K.pneumoniae* suşunda BH saptanmıştır. BH oranı *E.coli* için %0, *K.pneumoniae* için %18, toplam suşlarda %3,4 olarak hesaplanmıştır.

Çalışma sonucunda agar dilüsyon yönteminde fosfomisin dirençli olup otomatize sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile duyarlı bulunan suşlar ÇBH olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda her iki bakteri türü için de ÇBH saptanan suş bulunmamıştır. Bu nedenle ÇBH oranı %0 olarak hesaplanmıştır. BH ve ÇBH oranları Tablo:7'de gösterilmiştir.

Tablo7: Vitek-2 otomatize sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanan büyük hata ve çok büyük hata oranları

Yöntem	Büyük Hata (n=%)			Çok Büyük Hata (n=%)		
	E.coli	K.pneumoniae	Toplam	E.coli	K.pneumoniae	Toplam
Otomatize Sıvı Mikrodilüsyon	0/48 (%0)	2/11 (%18)	2/59 (%3,4)	0/8 (%0)	0/33 (%0)	0/41 (%0)

Çalışma sonucunda, agar dilüsyon yöntemiyle fosfomisin duyarlılığı çalışılan 100 suşun fosfomisin MİK değerlerinin mod değeri 1mg/L olarak saptanmıştır.

5.TARTIŞMA

Üriner sistem enfeksiyonları sık görülen enfeksiyonlardan biridir. Bu enfeksiyonlarda *E.coli* ve *K.pneumoniae* en sık etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Antibiyotiklere dirençli patojen bakterilerdeki artış öncelikli bir halk sağlığı problemi olup direnç sorununun acil olarak çözülmesi gerekmektedir. Yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi maliyetli ve zaman alıcı bir süreç olması nedeniyle polimiksinler, fusidik asit ve fosfomisin gibi eski antibiyotiklerin akılcı kullanımı ve geri kazanılması gündeme gelmiştir. Bu nedenle üriner sistem enfeksiyonlarında etken olarak izole edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarının fosfomisin duyarlılığının laboratuvarlar tarafından saptanması önem taşımaktadır.

Fosfomisin duyarlılığının belirlenmesi için EUCAST ve CLSI referans yöntem olarak agar dilüsyon çalışılmasını önermektedir. Ancak agar dilüsyon yöntemi rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarının günlük işleyişinde emek yoğun; uygulaması zaman alıcı bir yöntemdir. Diğer antibiyotikler için rutin çalışmalarda kullanılan disk difüzyon veya gradient şerit testleri fosfomisin için inhibisyon bölgeleri içinde izole koloniler oluşması nedeniyle, sonuçların yorumlanması açısından belirsizlikler taşımaktadır.

EUCAST V.10,0'da yalnızca *E.coli* için glukoz-6-fosfat içeren fosfomisin diski ile disk difüzyon testi yapılması (150µg fosfomisin + 50 µg glukoz-6-fosfat) diğer *Enterobacterales* üyeleri için referans yöntem olan agar dilüsyon (25 mg/L glukoz-6-fosfat içeren) yöntemi ile fosfomisin duyarlılığının çalışılması önerilmektedir. Disk diffüzyon sonuçları değerlendirilirken zon çapı keskin olan örneklerde zon içi kolonilerin göz ardı edilmesi ve sonuçların (S≥24mm) duyarlı olarak yorumlanması tavsiye edilmektedir. CLSI yalnızca *E.coli* idrar izolatları için disk difüzyon/agar dilüsyon testlerinin yapılmasını ve EUCAST önerilerinin aksine zon içinde gözlenen kolonilerin dikkate alınması gerektiğini önermektedir. CLSI ve EUCAST disk difüzyon ve MİK sonuçlarını değerlendirme kriterleri farklı olduğundan duyarlılık yüzdeleri seçilen referans önerilere göre değişmektedir (Tablo 1) (32,33).

Referans agar dilüsyon testinin rutin çalışmalarda uygulanması zor olduğundan daha kolay ve daha hızlı sonuç verecek yöntemlere ihtiyaç vardır.

Otomatize sistemler laboratuvarlarda iş yükünü azaltmaları, tekrarlanabilirliklerinin yüksek olması, uzman sistem analizi ile veri yönetimi yapılabilmesi nedeniyle sık kullanılan yöntemlerdir. Laboratuvarımızda antibiyotik duyarlılık sonuçlarının saptanması için rutin olarak Vitek-2 sistemi kullanılmaktadır. Otomatize sistemlerin fosfomisin duyarlılığını saptamadaki performansı ile ilgili olarak çok farklı oranlar bildirilmektedir.

E.coli ve *K.pneumoniae* suşlarının fosfomisin duyarlılığını saptamak üzere otomatize sıvı mikrodilüsyon yöntemi (Vitek-2) ile elde ettiğimiz MİK değerlerini agar dilüsyon yöntemi ile karşılaştırdığımız çalışmada KU %98 olarak bulunmuştur. Bu oran *E.coli* izolatları için %100, *K.pneumoniae* izolatları için %95,4'dir. *K.pneumoniae* izolatlarının iki tanesinde agar dilüsyon yöntemiyle uyumsuzluk saptanmış olup bunlar büyük hata şeklinde olmuştur.

Van den Bijllaardt ve ark. (42) 2016-2017 yılları arasında farklı merkezlerden ve çeşitli örneklerden (idrar, kan vb) 775 *E.coli* ve 201 *K.pneumoniae* suşunun fosfomisin duyarlılığını agar dilüsyon yöntemiyle saptadıktan sonra Etest, MTS(MİK Test Strip) test, Vitek 2, Phoenix ve disk difüzyonla çalışıp sonuçları referans yöntemle karşılaştırmışlardır. Araştırıcılar *E.coli* suşları için fosfomisin duyarlılık oranını %95,9, *K.pneumoniae* için %87,6 olarak bulmuşlardır. Bizim suşlarımızdan farklı olarak mevcut çalışmada izolatların daha yüksek oranda duyarlı suşlardan oluştuğu görülmektedir. Çalışmada Vitek 2 ile agar dilüsyon yönteminin KU uyum oranları *E.coli* için %99, *K.pneumoniae* için %94,5 olup KU kabul edilebilir değerde bulunmuştur. Çalışmada BH; *E.coli* için %0,3, *K.pneumoniae* için %4, ÇBH *E.coli* için %18,8, *K.pneumoniae* için %16 olarak bulunmuştur. Phoenix ile agar dilüsyon sisteminin KU oranları *E.coli* için %99,5; *K.pneumoniae* için %93 olarak saptanmıştır. Phoenix sistemiyle *E.coli* suşlarında BH saptanmazken, *K.pneumoniae* suşlarında %6,3 oranında BH saptanmıştır. ÇBH oranları ise *E.coli* için %12,5; *K.pneumoniae* için %12 olup kabul edilebilir değerin üzerinde bulunmuştur. Mevcut çalışmada ÇBH oranının yüksek olmasının çalışmadaki dirençli suş sayısının (*E.coli* izolatlarında %4,1; *K.pneumoniae* için %12,4) az olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Araştırıcılar hem *E.coli* (%23,3 Etest, %18,5/MTS, %18,8/Vitek-2, %12,5/Phoenix ve %12,9/Disk difüzyon) hem de *K.pneumoniae* izolatlarında (%22,7 /Etest ve MTS), %16/Vitek-2 ve %12/Phoenix) saptanan yüksek hata oranları

nedeniyle hiçbir yöntemin agar dilüsyon testinin uygun alternatifi olamayacağı sonucuna varmışlardır.

Hirsch ve ark. (43) 150 *E.coli* ve 44 *Klebsiella spp*. suşu ile yaptıkları çalışmada; Etest ve disk difüzyon yöntemiyle elde ettikleri fosfomisin duyarlılık sonuçlarını referans yöntemle karşılaştırmışlardır. *E.coli* için fosfomisinin agar dilüsyon $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla 0,5 mg/L ve 2 mg/L olarak saptanmıştır. *Klebsiella spp*. suşları için ise $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri 16 mg/L ve 32 mg/L'dir. Bizim çalışmamızın *E.coli* için $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri 2 mg/L ve 128 mg/L, *K.pneumoniae* için $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri 64 mg/L ve 1024 mg/L olarak bulunmuştur. Mevcut çalışmaya göre fosfomisin için $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerlerimiz daha yüksek saptanmıştır. Çalışmamıza dahil ettiğimiz suşlardaki direnç oranlarının yüksek olması nedeniyle $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerlerimizin daha yüksek olduğunu düşünmekteyiz. Duyarlılık sonuçlarının CLSI kriterlerine göre yorumlandığı çalışmada sonuçlar referans yöntemle kıyaslandığında Etest yöntemi ile disk difüzyon yöntemine göre daha yüksek oranda tutarsız sonuçlar alındığı gösterilmiştir.

Kaase ve ark.'nın (44) çoğunluğu karbapenem dirençli 24 *E.coli* ve 50 *K.pneumoniae* izolatı ile yaptıkları Etest ve disk difüzyon test sonuçlarını referans yöntemle karşılaştırdıkları çalışmada *E.coli* için $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri 1 mg/L ve 256 mg/L, *K.pneumoniae* için $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri 16 mg/L ve 256 mg/L olarak tespit edilmiştir. Araştırıcılar çalışma verilerimize paralel şekilde *E.coli* suşlarının MİK değerlerini *K.pneumoniae* izolatlarından düşük bulmuşlardır. Çalışmada her iki yöntemin referans yöntemle uyumu zayıf bulunmuştur.

Camarlinghi ve ark.'nın (45) 2018 yılında yayınlanan araştırmasında KPC pozitif 78 *K.pneumoniae* suşunun fosfomisin duyarlılığı Sensititre, Etest, disk difüzyon, MIC Test Strip ve Vitek-2 ile çalışılıp refarans yöntemle karşılaştırılmıştır. Suşların fosfomisin duyarlığı %57,7 olup bizim verilerimize oranla (%25) duyarlı suşların oranı daha fazladır. Çalışmada otomatize sistem Vitek-2 ile agar dilüsyon yöntemi karşılaştırıldığında KU %52,6, TU %71,8, BH %75,6, ÇBH %9,1 olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızla kıyaslandığında; KU ve TU oranlarının sonuçlarımızdan daha düşük olduğu ve ISO kabul kriterlerini karşılamadığı görülmektedir. Hata oranlarımız kıyaslandığında hem BH, hem de ÇBH oranlarının

verilerimizden oldukça yüksek olduğu dikkat çekmektedir. Araştırıcılar elde ettikleri verilere istinaden hiçbir yöntem ISO kriterlerini karşılamadığından bu yöntemlerle elde edilen duyarlılık sonuçlarının kabul edilemez olduğu sonucuna varmışlardır.

Karlowsky ve ark (46) 2020 yılında yayınlanan çalışmalarında 162'si idrar örneklerinden izole edilen toplam 554 adet *E.coli* suşunu fosfomisin duyarlılığı açısından agar dilüsyon, disk difüzyon ve Etest yöntemleri ile incelemişlerdir. Fosfomisin $MİK_{50}$ değeri ≤1mg/L, $MİK_{90}$ değeri 4 mg/L olarak tespit edilmiştir. Fosfomisin duyarlılık oranı ise %98,4'tür. Çalışmada; toplam 61 izolat (agar dilüsyon MİK değeri ≥32 olan 12 suş ve düşük MİK değerlerine sahip 49 suş) Vitek-2 otomatize sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle çalışılarak referans yöntemle karşılaştırılmıştır. Agar dilüsyon MİK değerleri 64-256 mg/L olan sekiz izolatın tümünde Vitek-2 ile MİK değerleri bir ile üç dilüsyon daha düşük bulunmuştur. Vitek-2 ile saptanan düşük MİK değerleri; MİK≥128 mg/L olan altı izolatın beşinde minör hata ile, MİK değerleri >32 mg/L olan dokuz izolatın beşinde ise ÇBH ile sonuçlanmıştır. Mevcut çalışmada başka bir dikkat çekici bulgu olarak duyarlılık sonuçları CLSI göre değerlendirildiğinde BH ve ÇBH saptanmazken sonuçlar EUCAST'e göre değerlendirildiğinde disk difüzyon testinde %44,4; Etest te ise %33,3 oranında ÇBH yapıldığını saptamışlardır.

Ballestero-Tellez ve ark'nın (47) 2016 yılında yayınlanan araştırmalarında idrar, kan, safra ve abdominal örneklerden izole edilen 81'i *E.coli,* 139'u *K.pneumoniae* toplam 220 suş ile çalışmışlardır. Suşlar fosfomisin duyarlılığı açısından sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle iki farklı inokulumda çalışılmış ve referans yöntem olan agar dilüsyon ile sonuçlar karşılaştırılmıştır. *E.coli* suşlarının fosfomisin duyarlılığı referans yöntem ile %72,8, *K.pneumoniae* suşlarının duyarlılığı ise %64,7 olarak saptanmıştır. Çalışmada *E.coli* için sıvı mikrodilüsyon yönteminin referans yönteme göre KU oranı %86,4, ÇBH %9,1, BH %3,3 olarak bulunmuştur. *K.pneumoniae* suşları için ise KU %51,1, ÇBH %15,7, BH %28,4'tür. Suşların TU oranı ise %55,45 olarak saptanmıştır. Araştırmada bizim çalışmamızdan farklı olarak kategorik uyumun <%90 oluşu dikkat çekmektedir. Ayrıca yapılan araştırmada *E.coli* için kabul edilebilir düzeylerin üzerinde ÇBH ve BH oranları mevcutken, bizim çalışmamızda bu araştırmadan farklı olarak *E.coli* suşları için uyumsuz sonuç saptamadık. *K.pneumoniae* suşları için çalışmamıza benzer şekilde BH oranı ÇBH

oranından daha yüksek tespit edilmiştir. Araştırıcılar uyumsuz sonuçların kısmen sıvı mikrodilüsyon başlangıç inokülum değerlerine göre daha yüksek inokülüm oranları kullanılmasına bağlı olabileceği yorumu yapmışlardır.

Cuevas ve ark. (48) 2010 yılında yaptıkları komplike olmayan idrar yolu enfeksiyon etkeni olarak izole edilen 2152 *Enterobacteriaceae* izolatında üçüncü kuşak sefalosporin cefditoren ve geleneksel tedavide tercih edilen B-laktam, florokinolon ve fosfomisin duyarlılık sonuçlarını karşılaştırdıkları çalışmada otomatize sıvı mikrodilüsyon sistemi MicroScan sistemi kullanılmıştır. İzole edilen en sık bakteri türü *E.coli* (%81,8), ikinci en sık ise *K.pneumoniae*' (%7,9) dır. Çalışmada *E.coli* suşları için fosfomisin $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değeri ≤16mg/L iken; *K.pneumoniae* için $MİK_{50}$≤16, $MİK_{90}$ ise >64mg/L olarak bulunmuştur. Araştırıcılar toplumda kazanılan komplike olmayan idrar yolu enfeksiyon etkenleri için cefditoren etkinliğini diğer tedavi seçeneklerinden üstün fosfomisin etkinliğine ise benzer bulmuşlardır. Araştırıcılar tarafından MicroScan sonuçlarının referans yöntemle karşılaştırılmamış olması bu çalışmanın kısıtlılığı olarak görülmektedir.

Barry ve ark.(49) 1991 yılında yaptıkları çalışmada üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen 25 farklı türde toplam 352 bakteri suşunun fosfomisin ve dört farklı antibiyotik için antibiyotik duyarlılıklarını sıvı mikrodilüsyon ve agar dilüsyon yöntemleriyle çalışmışlardır. Suşların 51'i *E.coli,* 20'si *K.pneumoniae* olup sonuçlar CLSI'ya göre değerlendirilmiştir. Çalışmaya dahil edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarının tümü duyarlı (MİK<128) bulunmuştur. Araştırıcılar duyarlılık testleri yapılırken ortama glukoz-6-fosfat ilave edilmesinin ve ilave edilen glukoz-6-fosfat miktarının etkisini karşılaştırmışlardır. 25 mg/L glukoz-6-fosfat kullanıldığında *E.coli* suşları için agar dilüsyon yönteminde $MİK_{50}$ değeri 1 mg/L, $MİK_{90}$ değeri 4 mg/L, sıvı mikrodilüsyon yöntemi için $MİK_{50}$ değeri 2 mg/L, $MİK_{90}$ değeri 8 mg/L olarak saptanmıştır. Otuz adet *Klebsiella spp*. suşu için ise agar dilüsyon yönteminde $MİK_{50}$ değeri 16 mg/L, $MİK_{90}$ 32 mg/L, sıvı mikrodilüsyon yöntemi için $MİK_{50}$ değeri 32 mg/L, MIK_{90} 64 mg/L olarak bulunmuştur. Yapılan çalışma sonucunda hem *E.coli* hem de *K.pneumoniae* izolatları için sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile agar dilüsyon sonuçlarına göre daha yüksek $MİK_{50/90}$ değerleri elde edildiği görülmektedir. Diğer bir bulgu ortama glukoz-6-fosfat ilave edilmediğinde beklendiği şekilde daha yüksek $MİK_{50/90}$ değerleri elde edilmiş

olmasıdır. Glukoz-6-fosfatın 25 mg'ın üzerinde (50-100 mg/L) ilave edilmesinin *E.coli* için $MİK_{50/90}$ değerlerinde değişikliğe neden olmazken *K.pneumoniae* $MİK_{50/90}$ değerlerinde bir miktar yükselmeye sebep olduğu saptanmıştır. Çalışmada son yorum olarak diğer bakteri grupları için glukoz-6-fosfat ilavesi ile duyarlılık sonuçları değişmezken *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında glukoz-6-fosfat ilavesinin daha duyarlı MİK sonuçlarına sebep olduğu gösterilmiştir.

De Cueto ve ark. (50) 2005 yılında yayınlanan çalışmasında 290'ı *E.coli*, 128'i *K.pneumoniae* toplam 428 ESBL pozitif suşun fosfomisin duyarlılığını disk difüzyon, sıvı mikrodilüsyon ve agar dilüsyon yöntemiyle çalışmışlardır. Duyarlılık sonuçları CLSI'ya göre değerlendirilmiş ve suşların %97,4'ü fosfomisine duyarlı bulunmuştur. $MİK_{50}$ değeri 2 mg/L, $MİK_{90}$ 32 mg/L olarak saptanmıştır. *K.pneumoniae* suşlarının MİK değerleri *E.coli* suşlarına göre daha yüksek tespit edilmiştir. *K.pneumoniae* için $MİK_{50}$ değeri 16 mg/L, $MİK_{90}$ değeri 64 mg/L bulunmuştur. *E.coli* suşlarının ise %90'ından fazlasının MİK değeri <4mg/L olarak saptanmıştır. Araştırmada sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle *E.coli* suşları için ÇBH saptanmamış, BH oranı %0,3 olarak hesaplanmıştır. *K.pneumoniae* suşlarında ise ÇBH %1,4, BH oranı ise %12,3 olarak hesaplanmıştır. Çalışmamızda araştırıcıların verilerine benzer şekilde bizde *K.pneumoniae* izolatlarında $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerlerini *E.coli* suşlarından yüksek bulduk. *K.pneumoniae* suşlarında BH oranımız (%18) mevcut çalışmadan yüksek bulunmuştur. Araştırmacılar çalışma sonucunda dirençli ve orta duyarlı *K.pneumoniae* izolatlarında sıvı mikrodilüsyon ve disk difüzyon yöntemlerinin referans yöntemle doğrulanması gerektiği sonucuna ulaşmışlardır. Ayrıca sıvı mikrodilüsyon temelli otomatize sistemlerde *E.coli* dışındaki suşlar için BH oranlarının yüksek olacağı yorumunda bulunulmuştur.

Aprile ve ark.'nın (51) 85 karbapenem dirençli *K.pneumoniae* ve 35 ESBL pozitif *E.coli* suşunu dahil ettikleri çalışmada suşların fosfomisin duyarlılıkları sıvı mikrodilüsyon, gradient test, Vitek-2 otomatize sistemi, Phoenix otomatize sistemi ve agar dilüsyon yöntemi ile çalışılmıştır. Referans yöntem agar dilüsyona göre sonuçların KU ve hata oranları hesaplanmıştır. Fosfomisin direnç oranı *K.pneumoniae* suşlarında *E.coli* suşlarına göre daha yüksek bulunmuştur. ESBL pozitif *E.coli* suşlarının agar dilüsyon ile $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri 1 mg/L ve 32 mg/L, KPC pozitif *K.pneumoniae* suşlarında 32 mg/L ve >2048 mg/L, NDM OXA-

48 pozitif *K.pneumoniae* suşlarında 512 mg/L ve >2048 mg/L, OXA-48 pozitif *K.pneumoniae* suşlarında 32 mg/L ve 128 mg/L olarak bulunmuştur. Vitek-2 otomatize sisteminin KU oranları ESBL pozitif *E.coli* izolatlarında %80, KPC pozitif *K.pneumoniae* izolatlarında %84, NDM OXA-48 pozitif *K.pneumoniae* izolatlarında %93, OXA-48 pozitif *K.pneumuniae* izolatlarında %100 olarak bulunmuştur. Araştırmada bizim çalışmamızdan farklı olarak *E.coli* ve KPC pozitif *K.pneumoniae* suşları için kabul edilebilir değerin altında (<%90) KU bulunmuştur. Vitek-2 sistemi için ÇBH *E.coli* ve OXA-48 pozitif *K.pneumoniae* suşlarında bulunmamaktadır. KPC pozitif *K.pneumoniae* suşlarında %2, NDM OXA-48 pozitif *K.pneumoniae* suşlarında %7 olarak hesaplanmıştır. BH oranı ise *E.coli* suşlarında %20, KPC pozitif *K.pneumoniae* suşlarında %14 bulunmuş olup NDM ve OXA-48 pozitif *K.pneumoniae* suşlarında BH saptanmamıştır. KPC pozitif suşlarda çalışmamıza benzer şekilde BH oranı kabul edilebilir değerin üzerinde bulunmuştur. Bu nedenle araştırmacılar fosfomisin dirençli KPC pozitif *K.pneumoniae* suşları için agar dilüsyon yönteminin tek referans yöntem olduğu yorumunda bulunmuşlardır. İlaveten ESBL pozitif *E.coli* izolatları otomatize sistem duyarlı ise bu sonuçların referans yöntemle doğrulanmasına gerek olmadığı, dirençli izolatlar için ise referans yöntem rutinde zor uygulanabilir olduğundan gradient test ile doğrulanabileceği sonucuna varmışlardır. Çalışmada ticari sıvı mikrodilusyon sistemlerinden Phoenix sistemi tüm izolatlar için kategorik olarak uyumlu bulunmuş (>%90) ve performansı Vitek-2 sisteminden daha iyi saptanmıştır.

Mojica ve ark.'nın (52) 2020 yılında yayınlanan çalışmasında 64'ü *E.coli,* 68'i *K.pneumoniae* 132 izolatın fosfomisin duyarlılıkları disk difüzyon, sıvı mikrodilüsyon ve agar dilüsyon yöntemiyle çalışılmıştır. Yöntemlerin KU ve hata oranları hesaplanmıştır. Sonuçlar hem CLSI hem de EUCAST'e göre değerlendirilmiştir. *E.coli* için $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değeri sırasıyla 2 mg/L ve 16 mg/L; *K.pneumoniae* için 8 mg/L ve 32 mg/L'dir. EUCAST kriterlerine göre değerlendirildiğinde sıvı mikrodilüsyon yöntemi için *E.coli* suşlarında KU %67, ÇBH oranı %3, BH oranı %30 olarak bulunmuştur. *K.pneumoniae* suşlarında ise KU %81, BH oranı %19 bulunmuştur. ÇBH saptanmamıştır. Sonuçlar CLSI kriterlerine göre değerlendirildiğinde ise *E.coli* suşlarında KU %80, ÇBH oranı %1, BH oranı %11 olarak; *K.pneumoniae* suşlarında ise KU %87, BH oranı %6 bulunmuştur. Sıvı

mikrodilüsyon yönteminin KU ve BH oranları sonuçlar CLSI kriterlerine göre değerlendirildiğinde EUCAST sonuçlarına göre daha uyumlu ve hata oranları daha az olmasına karşın her iki bakteri türü için de kabul edilebilir değerin altındadır. Araştırmacılar test edilen yöntemlerde BH oranı yüksek olduğu için dirençli izolatların referans yöntemle konfirme edilmesi gerektiği sonucuna varmışlar ve sıvı mikrodilüsyon yönteminin düşük KU ve yüksek hata oranları nedeniyle tercih edilmemesi gerektiği yorumunda bulunmuşlardır.

Mezzatesta ve ark. (53) idrar örneklerinden izole edilen 24'ü ESBL pozitif *E.coli*, 56'sı KPC pozitif *K.pneumoniae* toplam 80 suşu dahil ettikleri çalışmada suşların fosfomisin duyarlılıklarını sıvı mikrodilüsyon, gradient test ve agar dilüsyon yöntemiyle saptamışlardır. Agar dilüsyon yöntemiyle *E.coli* için $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri 0,5 mg/L ve 1 mg/L; *K.pneumoniae* için $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri 32 mg/L ve 128 mg/L olarak bulunmuştur. Çalışmada *E.coli* izolatlarının tamamı duyarlı suşlardan oluşmakta olup sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile BH saptanmamıştır. Mevcut araştırmada *K.pneumoniae* izolatlarında bizim verilerimizin aksine BH saptanmamış; %14,3 oranında ÇBH saptanmıştır. Bu durumun çalışmaya dahil edilen *K.pneumoniae* izolatlarının %78 'inin duyarlı suşlardan oluşup dirençli izolat oranının çalışmamızdan daha az olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Sonuç olarak araştırıcılar sıvı mikrodilüsyon yönteminin sadece *E.coli* suşları için agar dilüsyon yöntemi yerine kullanılabileceği; *Klebsiella* suşlarında disk difüzyon ve mikrodilusyon yöntemi ile çalışıldığında sonuçların referans yöntemle konfirme edilmesi gerektiği yorumunda bulunmuşlardır.

Çalışmamıza dahil edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarının ESBL ya da karbapenemaz gibi taşıdıkları direnç profillerine göre fosfomisin direnç oranlarında değişiklik olup olmadığının irdelenmemesi çalışmamızın kısıtlılığıdır.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Fosfomisin duyarlılığını saptamak için EUCAST ve CLSI tarafından önerilen referans yöntem agar dilüsyon yöntemidir. Ancak agar dilüsyon emek yoğun bir yöntem olduğundan mikrobiyoloji laboratuvarlarının günlük rutin işleyişinde uygulanması zordur. Rutin laboratuvar işleyişi için daha kolay uygulanabilir yöntemlere gerek duyulmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda Laboratuvarımızda bakteri tanımlama ve antibiyotik duyarlılık işlemleri için rutin olarak kullanılan, bir otomatize sıvı mikrodilüsyon yöntemi olan Vitek-2 sisteminin fosfomisin duyarlılık sonuçları referans yöntemle uyum ve hata oranları açısından değerlendirilerek ISO kriterlerine göre kabul edilebilir olup olmadığı irdelenmiştir.

Çalışmamızda fosfomisin duyarlılığının belirlenmesinde VİTEK-2 otomatize sıvı mikrodilüsyon yöntemi referans yöntem ile KU açısından yüksek oranda (≥%90) uyumlu bulunmuştur. *E.coli* suşlarında hata saptanmazken, *K.pneumoniae* suşlarında BH oranımız kabul edilebilir değerin üzerinde bulunmuştur. KU oranlarının yüksek olmasına dayanarak Vitek-2 sisteminin rutin laboratuvarda kullanımının uygun olacağı düşünülmüştür. Ancak özellikle *K.pneumoniae* suşlarındaki yüksek hata oranları nedeniyle özellikle dirençli sonuçlar alınan izolatlarda referans yöntemle konfirme edilmeden sonuçların raporlanmaması gerektiği kanaati oluşmuştur.

7.KAYNAKLAR

1. Matthews PC, Barrett LK, Warren S, Stoesser N, Snelling M, Scarborough M, et al. Oral fosfomycin for treatment of urinary tract infection: A retrospective cohort study. BMC Infect Dis [Internet]. 2016;16(1):1–11. Available from: http://dx.doi.org/10.1186/s12879-016-1888-1

2. Uzun A, Gülen D, Tanriverdi Y, Demet Kaya A. Fosfomisin ve bazi{dotless} antimikrobiyal ajanlari{dotless}n üriner escherichia coli izolatlari{dotless}na in vitro etkinliğinin değerlendirilmesi. Klimik Derg. 2012;25(2):77–80.

3. Mandracchia VJ, Hayes DW, Yoho RM, Hayes MF. Diagnosis, Differential and Treatment Options. Nat Rev Microbiol [Internet]. 2000;13(March):269–84. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4457377/pdf/nihms691311.pdf

4. Handley MA, Reingold AL, Shiboski S, Padian NS. Incidence of acute urinary tract infection in young women and use of male condoms with and without Nonoxynol-9 spermicides. Epidemiology. 2002;13(4):431–6.

5. H. Ö. İdrar yolu infeksiyonları. In: WilkeTopcu A, Söyletir G, Doğanay M, editors. İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji. 1st ed. İstanbul: Nobel tıp kitapevleri; 2002. p. 1059–65.

6. Sharma PU, Bidwai U. Isolation and identification of bacteria causing urinary tract infections in pregnant women in vidarbha and their drug susceptibility patterns in them. Int J Curr Microbiol Appl Sci [Internet]. 2013;2(4):97–103. Available from: http://www.ijcmas.com

7. H Ö. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp FakültesiSürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi. 2002. 225–232 p.

8. Chu CM, Lowder JL. Diagnosis and treatment of urinary tract infections across age groups. Am J Obstet Gynecol [Internet]. 2018;219(1):40–51. Available from: https://doi.org/10.1016/j.ajog.2017.12.231

9. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology. In: Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA, editors. Medical Microbiology. 8th ed. Philadelphia: Elsevier; 2016. p. 253.

10. D. G. Enterik Gram Negatif Çomaklar (Enterobacteriaceae). O. YS, editor. Nobel Tıp Kitapevleri; 2014. 229–235 p.

11. Gary W. Procop, MD, MS; Deirdre L. Church, MD, PhD, D(ABMM); Geraldine S. Hall, PhD, D(ABMM); William M. Janda, PhD, D(ABMM); Elmer W. Koneman; Paul C.

Schreckenberger, PhD D. Color Atlas&Textbook Of Diagnostic Microbiology. In: Gary W. Procop DLC, editor. Color Atlas&Textbook Of Diagnostic Microbiology. 7th ed. Philadelphia; 2017. p. 499.

12. Croxen MA, Law RJ, Scholz R, Keeney KM, Wlodarska M, Finlay BB. Recent advances in understanding enteric pathogenic Escherichia coli. Clin Microbiol Rev. 2013;26(4):822–80.

13. Etymologia: Escherichia coli. Emerg Infect Dis. 2015;Aug.

14. Fricker EJ, Fricker CR. Use of two presence/absence systems for the detection of E. coli and coliforms from water. Water Res. 1996;30(9):2226–8.

15. Scholl D, Adhya S, Merril C. Escherichia coli K1's capsule is a barrier to bacteriophage T7. Appl Environ Microbiol. 2005;71(8):4872–4.

16. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology. In: Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA, editors. Medical Microbiology. 8th ed. Philadelphia; 2016. p. 255.

17. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology. In: Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA, editors. Medical Microbiology. 8th ed. Philadelphia; 2016. p. 258.

18. Lindstedt BA, Finton MD, Porcellato D, Brandal LT. High frequency of hybrid Escherichia coli strains with combined Intestinal Pathogenic Escherichia coli (IPEC) and Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli (ExPEC) virulence factors isolated from human faecal samples. BMC Infect Dis. 2018;18(1):1–12.

19. Dobrindt U, Blum-Oehler G, Hartsch T, Gottschalk G, Ron EZ, Fünfstück R, et al. S-fimbria-encoding determinant sfaI is located on pathogenicity island III536 of uropathogenic Escherichia coli strain 536. Infect Immun. 2001;69(7):4248–56.

20. Gunther N, Lockatell V, Johnson D. In Vivo Dynamics of Type 1 Fimbria Regulation in Uropathogenic Escherichia coli during Experimental Urinary Tract Infection. Infect Immun [Internet]. 2001;69(5):2838–46. Available from: http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L608050774%0Ahttp://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.2005.083246%0Ahttp://resolver.ebscohost.com/openurl?sid=EMBASE&issn=14697793&id=doi:10.1113%2Fjphysiol.2005.083246&atitle=Ontogeny+and

21. Spurbeck RR, Alteri CJ, Himpsl SD, Mobley HLT. The multifunctional protein YdiV represses p fimbria-mediated adherence in uropathogenic escherichia coli. J Bacteriol. 2013;195(14):3156–64.

22. Vandewalle A. Toll-like receptors and renal bacterial infections. Chang Gung Med J. 2008;31(6):525–37.

23. Baby S, Karnaker VK, Geetha RK. Adhesins of uropathogenic Escherichia coli (UPEC). Int J Med Microbiol Trop Dis. 2016;2(3):10–8.

24. Burns AM, Hull SI. Comparison of loss of serum resistance by defined lipopolysaccharide mutants and an acapsular mutant of uropathogenic Escherichia coli O75:K5. Infect Immun. 1998;66(9):4244–53.

25. Subashchandrabose S, Hazen TH, Brumbaugh AR, Himpsl SD, Smith SN, Ernst RD, et al. Host-specific induction of Escherichia coli fitness genes during human urinary tract infection. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014;111(51):18327–32.

26. Eghbalpoor F, Habibi M, Azizi O, Karam MRA, Bouzari S. Antibiotic resistance, virulence and genetic diversity of Klebsiella pneumoniae in community- And hospital-acquired urinary tract infections in Iran. Acta Microbiol Immunol Hung. 2019;66(3):349–66.

27. Caneiras C, Lito L, Melo-Cristino J, Duarte A. Community-and hospital-acquired Klebsiella Pneumoniae urinary tract infections in Portugal: Virulence and antibiotic resistance. Microorganisms. 2019;7(5):1–14.

28. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology. In: Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA, editors. Medical Microbiology. 8th ed. Philadelphia: Elsevier; 2016. p. 262.

29. Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC, et al. Color Atlas & Textbook Of Diagnostic Microbiology. In: Color Atlas & Textbook Of Diagnostic Microbiology. 7th ed. Philadelphia; 2017. p. 270.

30. Díez-aguilar M. Current key topics in fosfomycin. Spanish J Chemother. 2019;32(1):8–18.

31. Falagas ME, Vouloumanou EK, Samonis G, Vardakas KZ. Matthew E. Falagas,. Clin Microbiol Rev. 2016;29(2):321–47.

32. CLSI M100 ED 30:2020 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 30 th.Edition. 2020.

33. Huttner A, Kowalczyk A, Turjeman A, Babich T, Brossier C, Eliakim-Raz N, et al. Effect of 5-day Nitrofurantoin vs single-dose fosfomycin on clinical resolution of uncomplicated lower urinary tract infection in women a randomized clinical trial. JAMA - J Am Med Assoc. 2018;319(17):1781–9.

34. Derington CG, Benavides N, Delate T, Fish DN. Multiple-dose oral fosfomycin for treatment of complicated urinary tract infections in the outpatient setting. Open Forum Infect Dis. 2020;7(2).

35. Baylan O. Fosfomycin: Past, present and future [Fosfomisin: Dünü, bugünü ve geleceği]. Mikrobiyol Bul [Internet]. 2010;44(2):311–21. Available from:

https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-77952872863&partnerID=40&md5=35b16fd7e7f50e49370c8fa17d77fff1

36. Falagas ME, Athanasaki F, Voulgaris GL, Triarides NA, Vardakas KZ. Resistance to fosfomycin: Mechanisms, Frequency and Clinical Consequences. Int J Antimicrob Agents [Internet]. 2019;53(1):22–8. Available from: https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.09.013

37. Gary W. Procop, MD, MS; Deirdre L. Church, MD, PhD, D(ABMM); Geraldine S. Hall, PhD, D(ABMM); William M. Janda, PhD, D(ABMM); Elmer W. Koneman; Paul C. Schreckenberger, PhD D. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 7th ed. Philadelphia; 2017. 1107–1116 p.

38. Grimm H. In vitro investigations with fosfomycin on mueller-hinton agar with and without glucose-6-phosphate. Infection. 1979;7(5):256–9.

39. Committee E, Testing S, Microbiology C, Escmid ID. Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by agar dilution. Clin Microbiol Infect [Internet]. 2000;6(9):509–15. Available from: http://dx.doi.org/10.1046/j.1469-0691.2000.00142.x

40. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2020.

41. Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices — Part 1: Brothmicro-dilution reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic. 2019.

42. Van Den Bijllaardt W, Schijffelen MJ, Bosboom RW, Stuart JC, DIederen B, Kampinga G, et al. Susceptibility of ESBL Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae to fosfomycin in the Netherlands and comparison of several testing methods including Etest, MIC test strip, Vitek2, Phoenix and disc diffusion. J Antimicrob Chemother. 2018;73(9):2380–7.

43. Hirsch EB, Raux BR, Zucchi PC, Kim Y, McCoy C, Kirby JE, et al. Activity of fosfomycin and comparison of several susceptibility testing methods against contemporary urine isolates. Int J Antimicrob Agents [Internet]. 2015;46(6):642–7. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.08.012

44. Kaase M, Szabados F, Anders A, Gatermann SG. Fosfomycin susceptibility in carbapenem-resistant enterobacteriaceae from Germany. J Clin Microbiol. 2014;52(6):1893–7.

45. Camarlinghi G, Parisio EM, Antonelli A, Nardone M, Coppi M, Giani T, et al. Discrepancies in fosfomycin susceptibility testing of KPC-producing Klebsiella pneumoniae with various commercial methods. Diagn Microbiol Infect Dis [Internet]. 2019;93(1):74–6. Available from: https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2018.07.014

46. Karlowsky JA, Lagacé-Wiens PRS, Laing NM, Baxter MR, Adam HJ, Zhanel GG.

Susceptibility of Clinical Isolates of Escherichia coli to Fosfomycin as Measured by Four In Vitro Testing Methods. J Clin Microbiol. 2020;58(10):1–21.

47. Ballestero-Téllez M, Docobo-Pérez F, Rodríguez-Martínez JM, Conejo MC, Ramos-Guelfo MS, Blázquez J, et al. Role of inoculum and mutant frequency on fosfomycin MIC discrepancies by agar dilution and broth microdilution methods in Enterobacteriaceae. Clin Microbiol Infect. 2017;23(5):325–31.

48. Cuevas O, Cercenado E, Gimeno M, Marín M, Coronel P, Bouza E. Comparative in vitro activity of cefditoren and other antimicrobials against Enterobacteriaceae causing community-acquired uncomplicated urinary tract infections in women: A Spanish nationwide multicenter study. Diagn Microbiol Infect Dis [Internet]. 2010;67(3):251–60. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.02.013

49. Barry AL, Fuchs PC. In vitro susceptibility testing procedures for fosfomycin tromethamine. Antimicrob Agents Chemother. 1991;35(6):1235–8.

50. De Cueto M, López L, Hernández JR, Morillo C, Pascual A. In vitro activity of fosfomycin against extended-spectrum-β-lactamase- producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae: Comparison of susceptibility testing procedures. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50(1):368–70.

51. Aprile A, Scalia G, Stefani S, Mezzatesta ML. In vitro fosfomycin study on concordance of susceptibility testing methods against ESBL and carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. Integr Med Res [Internet]. 2020; Available from: https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.09.022

52. Mojica MF, De La Cadena E, Hernández-Gómez C, Correa A, Appel TM, Pallares CJ, et al. Performance of disk diffusion and broth microdilution for fosfomycin susceptibility testing of multidrug-resistant clinical isolates of Enterobacterales and Pseudomonas aeruginosa. J Glob Antimicrob Resist. 2020;21:391–5.

53. Mezzatesta ML, La Rosa G, Maugeri G, Zingali T, Caio C, Novelli A, et al. In vitro activity of fosfomycin trometamol and other oral antibiotics against multidrug-resistant uropathogens. Int J Antimicrob Agents [Internet]. 2017;49(6):763–6. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.01.020

8.ÖZGEÇMİŞ

I-Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Ezgi Akpınar

Doğum yeri ve tarihi: Kartal/İstanbul 15.07.1991

Uyruğu: TC

Medeni Durumu: Bekar

Mail adresi ve telefonu: ezgiakpinar1@gmail.com/05059457360

Yabancı dili: İngilizce

II-Eğitimi(tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru)

2009-2015: Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi

2005-2009: Karabük Anadolu Öğretmen Lisesi

2002-2005: Karabük Yenişehir Atatürk İlköğretim Okulu

1997-2002: Karabük Demir Çelik İlkokulu

III-Ünvanları(tarih sırasına göre eskiden yeniye doğru)

2015: Pratisyen Tabip

2016: Asistan Doktor

IV-Mesleki Deneyimi

Eylül 2015-Ağustos 2016: Zonguldak Ereğli Toplum Sağlığı Merkezi

Ağustos 2016-Halen: Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi

V-Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

KLİMUD