



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**FOSFOMİSİN DİRENÇLİ *ENTEROBACTERIACEAE*
İZOLATLARINDA FOSFOMİSİN DİRENCİNİN
GENOTİPİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kübra HACİEMİNOĞLU

Samsun

Temmuz – 2018



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**FOSFOMİSİN DİRENÇLİ *ENTEROBACTERIACEAE*
İZOLATLARINDA FOSFOMİSİN DİRENCİNİN
GENOTİPİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kübra HACİEMİNOĞLU

Danışman

Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI

Samsun

Temmuz – 2018

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kübra HACIEMİNOĞLU tarafından Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI danışmanlığında hazırlanan '**Fosfomisin dirençli *Enterobacteriaceae* izolatlarında fosfomisin direncinin genotipik olarak araştırılması**' başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 12/06/2018 tarihinde yapılan sınav ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Belma DURUPINAR
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Emel UZUNOĞLU KARAGÖZ
Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

...../...../.....

Prof. Dr. Ahmet UZUN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini ve ilgisini eksik etmeyen, bana her türlü araştırma olanağı sağlayan, akademik çalışmaların her aşamasında karşılaştığım güçlükleri aşmamda yardımcı olan, bilgi ve birikimi ile bana yol gösteren değerli tez danışmanım Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI'ya minnettarlığımı ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmalarım boyunca bilgi, ilgi ve yardımseverlikleriyle desteklerini gördüğüm ve her zaman rehberliklerine başvurduğum değerli hocalarım Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ, Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Belma DURUPINAR, Dr. Öğr. Üyesi Kemal BİLGİN ve Dr. Öğr. Üyesi Demet GÜR VURAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans süresince bana pek çok konuda destek olan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı asistanları, doktora ve yüksek lisans öğrencileri ve de laboratuvar çalışanlarına çok teşekkür ederim.

Ayrıca sadece eğitim hayatım boyunca değil ömrümün her anında sevgilerini ve desteklerini eksik etmeyen, ellerinden gelen maddi ve manevi yardımı benden esirgemeyen ve emeklerini asla ödeyemeyeceğim annem Ferhan HACIEMİNOĞLU, hep benimle olduğunu hissettiğim babam Uğur HACIEMİNOĞLU'na ve ablalarım Demet HACIEMİNOĞLU ve Melek KAYA'ya sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.TIP.1904.17.008 proje numarası ile desteklenmiştir.

ÖZET

FOSFOMİSİN DİRENÇLİ *ENTEROBACTERIACEAE* İZOLATLARINDA FOSFOMİSİN DİRENCİNİN GENOTİPİK OLARAK ARAŞTIRILMASI

Amaç: Çalışmaya, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıp Laboratuvarları Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarına gönderilmiş idrar yolu örneklerinden izole edilen 185 *Enterobacteriaceae* izolatu dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen *Enterobacteriaceae* izolatlarında, fosfomisin direncinden sorumlu olduğu bilinen genlerden *fosA3* ve *fosC2* genlerinin varlığının moleküler olarak tespit edilmesi planlandı.

Materyal ve Metot: İzolatların tanımlanması Vitek MS (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi kullanılarak yapıldı. Antibiyotik duyarlılığı Vitek 2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi ve disk difüzyon yöntemleri ile test edildi. *Enterobacteriaceae* izolatları moleküler çalışmaya kadar -20°C’de saklamaya alındı. Fosfomisin dirençli izolatların kaynatma yöntemiyle DNA ekstraksiyonu yapıldı. DNA ekstraksiyonundan sonra özgün primerler kullanılarak optimizasyon işlemi yapıldı. Optimizasyon işleminin ardından Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemiyle *Enterobacteriaceae* izolatlarında *fosA3* ve *fosC2* genlerinin varlığı araştırıldı. PZR işleminin ardından sekans analizi yapıldı.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen *Enterobacteriaceae* izolatlarının en çok Dahiliye (%23,2), Üroloji (%19,5) ve Nöroloji (%18,9) servislerinden gönderildiği belirlendi. *Enterobacteriaceae* izolatları ile yapılan PZR işlemi sonucunda izolatların 2’sinde *fosA3* geni yönünden pozitif olarak bulunurken, izolatların hiçbirinde *fosC2* geni tespit edilemedi.

Sonuç: Yaptığımız çalışmaya dahil edilen *Enterobacteriaceae* izolatlarının %1,1’i *fosA3* geni yönünden pozitif bulundu. Ancak izolatların hiçbirinde *fosC2* geni tespit edilemedi.

Anahtar Kelimeler: Fosfomisin direnci; *Enterobacteriaceae*; *fosA3*; *fosC2*.

Kübra HACİEMİNOĞLU, Yüksek Lisans Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Temmuz - 2018

ABSTRACT

INVESTIGATION OF FOSFOMYCIN RESISTANCE IN FOSFOMYCIN RESISTANT *ENTEROBACTERIACEAE* ISOLATES

Aim: This study was included 185 *Enterobacteriaceae*, which isolated from clinical samples and sent to Bacteriology Laboratory of Medical Microbiology Department of Medical Faculty of Ondokuz Mayıs University Medical School. We aimed to investigate the presence of *fosA3* and *fosC2* genes that cause fosfomycin resistance in *Enterobacteriaceae* isolates which were included in the study.

Material and Method: Identification of isolates were performed in Vitek MS (bioMérieux, Fransa) automated system. The antibiotic susceptibility was tested with the Vitek 2 Compact (bioMérieux, Fransa) automated system and disc diffusion method. *Enterobacteriaceae* isolates were stored at -20 ° C until the molecular study. DNA extraction of fosfomycin resistant isolates was performed by boiling method. After DNA extraction, optimization was performed using the original primers. After optimization, *fosA3* and *fosC2* genes were investigated by polymerase chain reaction (PCR) method. Sequence analysis was done for the positive isolates after PCR.

Results: It was determined that the *Enterobacteriaceae* isolates included in the study were sent mostly from Internal Medicine (23.2%), Urology (19.5%) and Neurology (18.9%) services. As a result of the PCR and sequeunce, 2 of the 185 *Enterobacteriaceae* isolates were positive in the *fosA3* gene, *fosC2* gene was not detected.

Conclusion: As a result 1.1% of *Enterobacteriaceae* isolates included in the study were positive for *fosA3* gene. However, no *fos C2* was detected in any of the isolates.

Keywords: Fosfomycin resistance; *Enterobacteriaceae*; *fosA3*; *fosC2*.

SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|---------------|--|
| µg | : Mikrogram |
| µl | : Mikrolitre |
| BOS | : Beyin Omurilik Sıvısı |
| CLSI | : Clinical and Laboratory Standards Institute |
| CRE | : Karbapenem Dirençli <i>Enterobacteriaceae</i> |
| CR-KP | : Karbapenem Dirençli <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
| mm | : Milimetre |
| ml | : Mililitre |
| DNA | : Deoksiribonükleik Asit |
| ECA | : Enterobakteriyal Ortak Antijen |
| EMB | : Eozin Metilen Blue |
| EUCAST | : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing |
| G6F | : Glikoz – 6 – Fosfat |
| GI | : Gastrointestinal |
| GSBL | : Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar |
| HE | : Hektoen Enterik |
| MDR | : Çoklu İlaç Direnci |
| MH | : Mueller-Hinton |
| MHA | : Mueller-Hinton Agar |
| MİK | : Minimum İnhibitör Konsantrasyonu |
| MurA | : UDP-NAG Enol Pirüvil Transferaz |
| NAMA | : N-Asetil Muramik Asit |
| NAG | : N-Asetil Glukozamin |
| PZR | : Polimeraz Zincir Reaksiyonu |
| R | : Dirençli |
| S | : Duyarlı |
| TBE | : Tris Borik Asit EDTA |
| UDP | : Üridin difosfat |
| ÜSE | : Üriner Sistem Enfeksiyonu |
| XLD | : Ksiloz Lizin Deoksikolat |

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-----------|
| ÖZET | IV |
| ABSTRACT..... | V |
| SİMGELER VE KISALTMALAR | VI |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 4 |
| 2.1. <i>Enterobacteriaceae</i> Ailesi..... | 4 |
| 2.1.1. Epidemiyoloji | 4 |
| 2.1.2. Sınıflandırma | 4 |
| 2.1.3. Morfoloji..... | 5 |
| 2.1.4. Kültür Özellikleri..... | 6 |
| 2.1.5. Biyokimyasal Özellikler | 7 |
| 2.1.6. Antijenik Yapı | 8 |
| 2.1.7. Virülans Faktörleri..... | 9 |
| 2.1.8. Patogenez..... | 11 |
| 2.1.9. <i>Enterobacteriaceae</i> Enfeksiyonları | 12 |
| 2.1.10. Bakteriyolojik Tanı..... | 14 |
| 2.1.11. Antimikrobiyal Direnç..... | 14 |
| 2.1.12. <i>Enterobacteriaceae</i> Enfeksiyonlarının Tedavisi | 15 |
| 2.2. Fosfomisin..... | 16 |
| 2.2.1. Etki Mekanizması | 17 |
| 2.2.2. Antibakteriyel Aktivitesi | 19 |
| 2.2.3. Direnç Mekanizması..... | 21 |
| 2.2.4. <i>fosA3</i> ve <i>fosC2</i> Genleri..... | 23 |
| 3. MATERYAL VE METOT..... | 25 |
| 3.1. Bakterilerin Tanımlanması..... | 25 |
| 3.2. Bakterilerin Antimikrobiyal Direncinin Belirlenmesi | 25 |
| 3.2.1. Vitek 2 Compact (bioMérieux, Fransa) Otomatize Sistemi | 25 |
| 3.2.2. Disk Difüzyon Yöntemi..... | 26 |
| 3.3. Moleküler Yöntemler | 26 |
| 3.3.1. <i>Enterobacteriaceae</i> İzolatlarından DNA Ekstraksiyonu | 26 |
| 3.3.2. <i>fosA3</i> Ve <i>fosC2</i> Genlerinin Standart PZR Yöntemi ile Araştırılması | 27 |

| | |
|--|-----------|
| 4. BULGULAR | 29 |
| 4.1. <i>Enterobacteriaceae</i> İzolatlarının Türlerine Göre Dağılımı ve İzole Edildikleri Klinik Servisler | 29 |
| 4.2. <i>fosA3</i> ve <i>fosC2</i> Genleri için PZR ve Elektroforez İşlemi Sonuçları..... | 29 |
| 5. TARTIŞMA | 31 |
| 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER | 35 |
| KAYNAKLAR | 36 |
| ÖZGEÇMİŞ | 44 |



1. GİRİŞ

Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE) tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de oldukça sık karşılaşılan ve önemli bir morbidite nedeni olan enfeksiyonlardır (Köken ve ark., 2008; Oteo ve ark., 2010). ÜSE sayısının; dünyada 150 milyon/yıl, Amerika Birleşik Devletleri'nde 7 milyon/yıl olduğu öngörülmüşken, ülkemizde ise her yıl ortalama 5 milyon sistit atağı olduğu raporlanmıştır (Ertuğrul ve ark., 2004; Alos ve ark., 2005; Arslan ve ark., 2005; Köken ve ark., 2008). ÜSE tedavisinde sık kullanılan beta - laktama, beta – laktam / beta - laktamaz inhibitör kombinasyonuna, trimetoprim - sülfametoksazola, kinolonlara ve aminoglikozidlere karşı direnç, hızlı bir artış göstermektedir. Bu hızlı direnç gelişimi sebebiyle yeni antibiyotiklere ihtiyaç duyulmuştur (Tekin ve ark., 2012). Bir fosfonik asit türevi olan fosfomisin, tek doz kullanım avantajı, yan etkisinin az olması ve *Enterobacteriaceae*'larda direnç oranının düşük olması sebebiyle komplike olmayan ÜSE tedavisinde alternatif olarak tercih edilecek antibiyotiklerden biri olmuştur (Falagas ve ark., 2010).

Streptomyces türlerinden izole edilen fosfomisin, idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisi için kullanılan geniş spektrumlu ürosesifik bir antibiyotiktir. Fosfomisin 1969'da İspanya'da bulunmuştur. Keşfedildiği ilk zamanlar menenjit dahil birçok önemli enfeksiyonun tedavisinde sadece parenteral olarak kullanılabilmiştir. 1980'li yılların başında fosfomisin trometamol olarak bilinen, oral uygulanabilen ve suda çok iyi çözünebilen fosfomisin tuzu elde edilmiştir (Reeves, 1992).

Fosfomisin, bir fosfoenol pirüvat analogudur (Greenwood, 2003). Bakterinin hücre duvarında bulunan peptidoglikan tabakası, N-asetil glikozamin (NAG) ve N-asetil muramik asidin (NAMA) birbirini izleyen birimlerinin pentapeptid çapraz bağlarla bağlanması ile oluşur. Bakterinin hücre duvarı sentezinde ilk adım sitoplazmada gerçekleşir ve bu adım, üridin difosfat (UDP)-NAG'ın 3'-hidroksil grubundan inorganik fosfatın ayrılmasıyla fosfoenol pirüvattan gelen enol pirüvatın UDP-NAG'a eklenmesini içerir. Bu reaksiyon, *E.coli* gibi bakterilerde önemli temel bir sitoplazmik enzim olan UDP-NAG enol pirüvil transferaz (MurA) enzimi tarafından katalizlenir. MurA enziminin inaktivasyonu, peptidoglikan sentezini engelleyerek hücre sel bütünlüğün bozulmasına ve bakterinin ozmotik parçalanımına sebep olur (Kumar ve ark., 2009). Fosfomisin, MurA enziminin 115. sistein kalıntısına geri dönüşümsüz olarak kovalent yolla bağlanır, böylece MurA enzimini inhibe ederek UDP-NAMA oluşumunu önler ve

antibakteriyel etkinliğini, peptidoglikan tabakasının sentezini engelleyerek gösterir. Yapılan *in vitro* çalışmalarda fosfomisin, duyarlı bakteriler üzerinde bakterisidal etkinliğini, 30 dakika içinde gösterdiği belirlenmiştir (Greenwood, 2003; Schito, 2003; Yao ve ark., 2007; Falagas ve ark., 2008; Garau, 2008; Hoşbul ve ark., 2009).

Etkilediği bölgenin farklılığı ve kimyasal yapısı sebebiyle fosfomisin diğer antibakteriyel ajanlar ile arasında çapraz direnç yoktur ya da çok nadir görülmektedir (Patel ve ark., 1997; Greenwood, 2003; Yao ve ark., 2007). Gelişmiş ülkelerde uzunca süredir klinik olarak yaygın şekilde kullanılan fosfomisine karşı, bakterilerde direnç gelişimi halen nadir görülmektedir. Direnç mekanizmaları, çoğunlukla kromozomal kaynaklı ya da ender olarak plazmid aracılıdır (Patel ve ark., 1997; Afşar ve ark., 2005; Mert, 2006; Falagas ve Kopterides, 2007; Yao ve ark., 2007).

Kromozomal mutasyonların çoğu, ilacın hücre içine taşınmasını sağlayan bakteriyel proteinleri kodlayan yapısal ve düzenleyici genlerde görülmektedir. Bu mutasyonlar, bakterilerin iki temel transport mekanizması olan heksoz fosfat ve L- α -gliserofosfat sistemlerinin bozulmasına yol açar ve fosfomisin bakteri hücresi içine geçişini azaltarak hedef bölgeye ulaşmasını engellemektedir (Patel ve ark., 1997; Afşar ve ark., 2005; Mert, 2006; Falagas ve ark., 2007; Yao ve ark., 2007; Kumar ve ark., 2009). Fosfomisine dirençli mutantlar, fosfomisin transportunda bozukluğa yol açan özellikle kromozomal *glpT* mutasyonlarına bağlı olarak antibiyotik tedavisi sırasında spontan ortaya çıkmaktadır. Glikoz-6-fosfat (G6F) tarafından indüklenen heksoz fosfat transport sisteminde hasar oluşan dirençli mutantlar, daha ziyade *in vitro* ortamda yüksek sıklıkta (10^{-4} - 10^{-5}) ortaya çıkmaktadır. *In vivo* oluşan direnç ise genellikle L- α -gliserofosfat transport mekanizmasının kaybıyla ilişkilidir (Kumar ve ark., 2009).

Bazı türlerde izlenen plazmid aracılı direnç ise, ilacı inaktive eden enzim üretimi ile ilişkili olup bu durum katalitik bir konjugasyonla sonuçlanmakta, bakteri türleri arasında coğrafik bölgelere bağlı olarak yayılım göstermektedir (Patel ve ark., 1997; El Zoeiby ve ark., 2003; Greenwood, 2003; Mert, 2006; Yao ve ark., 2007). Plazmidle kodlanmış enzimler olan *fosA* ve *fosB*, fosfomisin direncinde rol oynar. *Enterobacteriaceae* ve *Pseudomonas spp.* üyeleri arasında *fosA* geni, oldukça yaygın olarak bildirilmektedir (Patel ve ark., 1997; Greenwood, 2003). *S.aureus*, *Bacillus subtilis* gibi gram-pozitif bakterilerde *fosB*, *Mesorhizobium loti* ve *Listeria*

monocytogenes gibi bakterilerde ise *fosX* genleri, fosfomisin direncindeki rolleri açısından detaylı olarak çalışılmıştır (Kumar ve ark., 2009).

fosA3 geni Çin’de çiftlik hayvanlarında, evcil hayvanlarda ve insanda klinik örneklerde; Güney Kore’de insanda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten izolatlarda ve Japonya’da sağlıklı bireylerde görülmüştür (Lee ve ark., 2012; Ho ve ark., 2013; Hou ve ark., 2013; Sato ve ark., 2013). *fosC2* ise Japonya’da CTX – M üreten *E. coli* izolatlarında tanımlanmıştır (Wachino ve ark., 2010). *Klebsiella pneumoniae*’da fosfomisin direnci görülme oranı tüm dünyada düşüktür. Bununla birlikte Çin’de yapılan bir çalışmada KPC – üreten *K. pneumoniae* suşlarının direnç oranının, yalnızca GSBL üreten izolatlarla oranla daha yüksek olduğu ortaya konulmuştur. Yine bu çalışmada fosfomisin dirençli *K. pneumoniae* izolatlarının çoğunda fosfomisin direncinin temel nedeninin *fosA3* geni olduğu verilerle ortaya konulmuştur. KPC – üreten ya da GSBL – üreten *K. pneumoniae* izolatlarının % 50’sinden fazlasında *fosA3* geni tespit edilmiştir (Jiang ve ark., 2015).

Bizim çalışmamızda da, üriner sistem örneklerinden elde edilen fosfomisin dirençli *Enterobacteriaceae* izolatlarının genotipik yapıları aydınlatılarak, direnç mekanizmalarında plazmid aracılı fosfomisin direnç genleri *fosA3* ve *fosC2* genlerinin etkisi olup olmadığının tespiti amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Enterobacteriaceae* Ailesi

Enterobacteriaceae ailesi; tıbbi öneme sahip gram negatif basiller içindeki en büyük ve en heterojen topluluktur. Bu aile, 40'dan fazla cins ve 150'den fazla türü kapsamaktadır. Bu büyük aileye her geçen gün yeni üyeler eklenebilmekte veya genetik analizler sonucu mevcut tür isimleri değiştirilebilmektedir (Donnenberg, 2010). *Enterobacteriaceae* ailesine ait türler; biyokimyasal özellikleri, antijenik yapıları, DNA hibridizasyonu ve 16S rRNA dizilimlerine göre sınıflandırılırlar (Gür ve ark., 2009).

2.1.1. Epidemiyoloji

Enterobacteriaceae üyeleri toprak, su ve bitkilerde yaygın olarak bulunmakla birlikte, hayvan ve insan bağırsaklarına da yerleşir. İnsanlarda gastrointestinal (GI) sistemde mevcut olan bakterilerin yaklaşık %99'unu anaerop bakteriler oluşturur ve bu bakterilerin çoğu *Bacteroides*'lerdir. Fakat gaita kültürleri aerop ortamlarda inkübasyona bırakıldığında en fazla *Enterobacteriaceae* üyelerinin üremesi gerçekleşmektedir. Gaitada en sık karşılaşılan fakültatif anaerop mikroorganizma *E. coli*'dir. Deniz, akarsu, göl, şebeke, kuyu ve içme suyu gibi sularda *Escherichia coli* ya da diğer *Enterobacteriaceae* üyelerinin (*Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter* gibi) varlığı, suların kanalizasyonla kirlendiğinin belirgin bir kanıtı olarak kabul edilmektedir. *Enterobacteriaceae* üyeleri doğada yaygın olarak bulunmakla birlikte bazı türleri sınırlı ekolojik bölgelerde bulunur. Örneğin; tifo hastalığına neden olan *Salmonella typhi*, yalnızca insanda karşımıza çıkmaktadır. Yaşadığımız çevrede çok yaygın olarak bulunan *Klebsiella pneumoniae* ise; doğada biyokimyasal ve jeokimyasal olaylara katılır. Bunun yanı sıra *K. pneumoniae* izolatları insanların bağırsak, solunum ve üriner sistemlerinde belirtisiz yerleşim göstererek, ölüme kadar ilerleyebilen ağır enfeksiyonlara neden olmaktadır (Baron,1996; Ustaçelebi, 1999; Grimont ve Grimont, 2006; Davin-Regli ve Pages, 2015).

2.1.2. Sınıflandırma

Enterobacteriaceae 'ların sınıflandırılması ve adlandırılmasında son zamanlara kadar fizyolojik, biyokimyasal ve antijenik fenotipik özellikleri dikkate alınmaktaydı. Ancak günümüzde bu fenotipik özellikleri daha da güçlendirmek için DNA benzerliği de dikkate alınmaktadır. Bunun için DNA-DNA hibridizasyon ve 16S rRNA dizilimlerine

bakılmaktadır (Ustaçelebi, 1999; Wu ve ark., 2009). *Enterobacteriaceae* ailesine üye bakterilerin sınıflandırması Tablo 1’de görülmektedir.

Tablo 1. *Enterobacteriaceae* ailesinin sınıflandırması (Koneman ve ark., 1997; Walker ve ark., 2007’den uyarlanmıştır.)

| Familya | Tür | Cins |
|-----------------------------|---------------------|--|
| <i>I.Escherichieae</i> | <i>Escherichia</i> | <i>E. coli</i> , <i>E. blatae</i> , <i>E. vulneris</i> , <i>E. fergusonii</i> , <i>E. hermannii</i> |
| | <i>Shigella</i> | <i>S. dysenteriae</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. boydii</i> , <i>S. sonnei</i> |
| <i>II.Edwardsiellae</i> | <i>Edwardsiella</i> | <i>E. tarda</i> , <i>E. hoshina</i> , <i>E. ictaluri</i> |
| <i>III.Salmonelleae</i> | <i>Salmonella</i> | <i>S. enterica</i> , <i>S. bongori</i> |
| <i>IV.Citrobacteriaceae</i> | <i>Citrobacter</i> | <i>C. freundii</i> , <i>C. diversus</i> , <i>C. amalonaticus</i> |
| <i>V.Klebsielleae</i> | <i>Klebsiella</i> | <i>K. pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i> , <i>K. pneumoniae</i> subsp. <i>ozananae</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>K. pneumoniae</i> subsp. <i>rhinoscleromatis</i> , <i>K. planticola</i> , <i>K. terrigena</i> , <i>K. ornithinolytica</i> |
| | <i>Enterobacter</i> | <i>E. aerogenes</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>E. amnigenus</i> , <i>E. taylorae</i> , <i>E. agglomerans</i> complex, <i>E. sakazakii</i> , <i>E. gergoviae</i> , <i>E. dissolvens</i> , <i>E. nimipreeuvalis</i> , <i>E. asburiae</i> , <i>E. hormaechei</i> |
| | <i>Hafnia</i> | <i>H. alvei</i> |
| | <i>Serratia</i> | <i>S. marcescens</i> , <i>S. liquefaciens</i> , <i>S. rubidaea</i> , <i>S. fonticola</i> , <i>S. odorifera</i> , <i>S. plymuthica</i> , <i>S. ficaria</i> |
| | <i>Pantoea</i> | <i>P.agglomerans</i> |
| <i>VI.Proteeae</i> | <i>Proteus</i> | <i>P. mirabilis</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. pennei</i> , <i>P. myxofaciens</i> |
| | <i>Morganella</i> | <i>M. morganii</i> |
| | <i>Providencia</i> | <i>P. alcalifaciens</i> , <i>P. stuartii</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. rustigianii</i> |
| <i>VII.Yersinieae</i> | <i>Yersinia</i> | <i>Y. pseudotuberculosis</i> , <i>Y. pestis</i> , <i>Y. enterocolitica</i> , <i>Y. frederiksenii</i> , <i>Y. kristensenii</i> , <i>Y. intermedia</i> , <i>Y. ruckeri</i> , <i>Y. aldovae</i> |

2.1.3. Morfoloji

Enterobacteriaceae ailesindeki bakteriler gram negatif, genellikle homojen boyanan, 2-3 µm boyunda, 0,3-10 µm eninde, uçları yuvarlak görünümlü, çomak şeklinde bakterilerdir. Aside dirençli boyanmazlar ve spor oluşturmazlar. Ancak bazı istisnalar da vardır. Örneğin; *Yersinia pestis* ve *Y. pseudotuberculosis* daha küçük ve

polikromatik boyanan kokobasil görünümünde bakterilerdir. *Klebsiella* cinsindekiler ise daha iri görünümündedir. *E. coli* ise eskimiş kültürlerinde ve bazı klinik örneklerden hazırlanan preparatlarda uzun filamentler oluşturmuş şekilde görülebilirler. *Klebsiella*, *Shigella*, *Leminorella*, *Moellerella* cinsleri, *Salmonella* cinsine ait bazı serovarlar ve *Yersinia pestis* türü hareketsiz; diğer bütün üyeler ise hareketlidir. *Y. enterocolitica* ve *Y. pseudotuberculosis* 37°C'de üretildiğinde hareketsiz, oda ısısında üretildiğinde ise hareketlidir. *Proteus* cinsindeki bakteriler ise katı besiyerinin yüzeyinde yayılacak kadar hareketlidir (Koneman ve ark., 1997; Willke ve ark., 2002; Farmer ve ark., 2009).

2.1.4. Kültür Özellikleri

Enterobacteriaceae ailesine üye bakteriler, fakültatif anaeropturlar. Bu bakteriler için optimal sıcaklık 35-37°C'dir ve en iyi karbondioksitsiz ortamda üreme gösterirler. İstisna olarak *Yersinia* ve *Serratia* türleri düşük sıcaklıklarda (1-5°C) üreyebilirler. Birçok laboratuvarında, enterik bakterilerin üretimi için çikolata ve kanlı agar gibi seçici olmayan besiyerleri ve MacConkey agar gibi seçici besiyerleri kullanılır (Cengiz, 2004). Bu besiyerleri; solunum yolları, yara, kan, steril vücut sıvıları ve idrardan enterik bakterileri izole etmek amacıyla kullanılmaktadır (Ustaçelebi, 1999).

Enterobacteriaceae üyeleri 24 saatte yuvarlak, ortası kalkık, düzgün kenarlı, 2–3 mm çapında, S tipinde, düzgün koloniler oluştururlar. Bazı türlerde koloniler daha geç ortaya çıkıp, daha küçük olabilir. Belirli O antijenlerini kaybetmiş suşlar kenarları ve yüzeyi düzensiz, R tipinde koloniler oluştururlar. *Klebsiella* cinsindeki bakteriler ve bazı *Enterobacter*, *Salmonella paratyphi B* suşları yüzeydeki kapsül nedeniyle mukoid koloni oluştururlar. *Serratia* suşlarının kolonileri, özellikle düşük sıcaklıklarda, prodigiosin pigmenti oluşturduklarında kırmızı renkte görülürler. *Enterobacter sakazakii*, *Escherichia vulneris* suşlarının bir kısmı sarı bir pigment oluşturur (Bilgehan, 2004). Kanlı agarda izolatlarının çoğunda hemoliz gözlenmezken, *E. coli*'nin bazı izolatları kuvvetli şekilde hemolizin ürettiği için, kanlı agarda hemoliz gözlenir (Ustaçelebi, 1999; Grimont ve ark., 2006). Tablo 2'de bazı *Enterobacteriaceae* üyelerinin MacConkey ve koyun kanlı agarda oluşturdukları kolonilerin görünüm ve büyüklükleri görülmektedir.

Enterobacteriaceae üyelerinin gaita örneklerinden izolasyonu için Eozin Metilen Blue (EMB) agar veya MacConkey agara ek olarak seçici ve ayırt edici özelliği daha fazla olan, Hektoen Enterik Agara (HE) veya Ksiloz Lizin Deoksikolat (XLD) agara ekim yapılmaktadır. HE agarda, laktoz pozitif türlerin sarı koloniler oluşturduğu

gözlenirken; laktoz negatif türlerin yeşil koloniler oluşturduğu gözlenir. *Proteus*'un (laktoz negatif) H₂S üreten suşlarında yeşil ve ortası siyah olan koloniler gözlenir. *Citrobacter freundii* suşlarında, sarı ve ortası siyah olan koloniler gözlenir. XLD agarda lizin dekarboksilaz oluşturan, fakat laktoz negatif olan *Salmonella* suşlarında kırmızı ve ortası siyah olan koloni oluşumu görülür. HE ve XLD agarda ferrik amonyum sitrat ve sodyum tiyosülfat bulunur. H₂S üreten suşlar, siyah renk koloniler oluştururlar (Ustaçelebi, 1999). *Enterobacteriaceae* üyelerinin izolasyonunda en çok tercih edilen besiyerleri Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 2. Bazı *Enterobacteriaceae* üyelerinin MacConkey agar ve kanlı agarda oluşturdukları kolonilerin görünüm ve büyüklükleri (Ustaçelebi, 1999'dan)

| Tür | Tipik görünüm ve büyüklük | |
|---|--|---|
| | MacConkey agar | Kanlı agar |
| <i>Salmonella spp.</i> , <i>Shigella spp.</i> | Renksiz, düzgün, 2-3 mm | Düzgün, 2-3 mm |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> | Renksiz, < 1 mm | Düzgün, < 1 mm |
| <i>Escherichia coli</i> | Pembe, kırmızı genellikle presipite olmuş safra ile çevrelenmiş, 2-3mm | Düzgün (bazı suşlar beta hemolitik), 2-3 mm |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | Pembe, mukoid, 3-4 mm | Mukoid, 3-4 mm |
| <i>Enterobacter spp.</i> | Pembe, <i>Klebsiella</i> kolonileri kadar mukoid değil | Düzgün, 3-4 mm |
| <i>Proteus vulgaris</i> ve <i>Proteus mirabilis</i> | Renksiz, yassı, hafifçe yayılabilen, 2-3 mm | Dalga dalga yayılarak petriyi kaplayabilen |
| <i>Providencia spp.</i> , <i>Morganella spp.</i> | Renksiz, yassı, 2-3 mm | Yassı, 2-3 mm |

2.1.5. Biyokimyasal Özellikler

Enterobacteriaceae ailesine üye bakteriler fakültatif anaerob mikroorganizmalardır. Bakterilerin hepsi oksidaz negatif, glukozu fermente edebilen ve nitrat bileşimini nitrite indirgeyebilen bakterilerdir. Fakat alginatı eritebilme yetenekleri yoktur. Glukoz fermentasyonu sonucu, düşük pH (pH 4.4) ortamı oluşmasını sağlayan, asidik son ürünler oluşur. Metil kırmızısı testi, düşük pH oluşturan asit son ürünlerin belirlenmesini sağlar; ortama metil kırmızısı eklenince ortamın rengi kırmızıya döner. *Enterobacter*, *Klebsiella* ve *Serratia* cinslerine ait türler glukoz fermentasyonunda,

butanediol fermentasyonu yolunu kullanarak, yan ürün olarak aseton oluşturmaktadır. Bundan dolayı, bu grubun Voges-Proskauer reaksiyonu pozitifdir.

Tablo 3. *Enterobacteriaceae* türlerinin izolasyonunda en çok tercih edilen besiyerleri (EMB: Eozin Metilen Blue, HE: Hektoen Enterik, XLD: Ksiloz Lizin Deoksikolat) (Ustaçelebi, 1999'dan)

| Besiyeri | | Karbonhidratlar | H ₂ S İncelemesi |
|--|----------------|-------------------------|-----------------------------|
| Çoğu türün üremesi için ayırıcı besiyerleri | MacConkey Agar | Laktoz | - |
| | EMB Agar | Laktoz, Sukroz, | - |
| Enterik patojenlerin gaitadan izolasyonu için seçici besiyerleri | HE Agar | Laktoz, Sukroz, Salisin | + |
| | XLD Agar | Laktoz, Sukroz, Ksiloz | + |

Enterobacteriaceae ailesindeki türlerin ve cinslerin karbonhidrat fermentasyonu farklılıklar gösterir. Fermente edebildikleri karbonhidratların ya da fermentasyon sonucu açığa çıkan son ürünlerin farklı olması, tür ve cins tespitinde kullanılmaktadır. *Enterobacteriaceae* ailesindeki türlerin ve cinslerin tanımlanmasında, sitrat kullanımı ve indol oluşumu da değerlendirilmektedir. Triptofan aminoasitinin yıkım ürünü olarak indol açığa çıkar. Triptofanaz enzimi olan bakteriler triptofanı deamine eder. Ara ürün olarak indol, amonyak ve pirüvik asit meydana gelir. Paradimetil amino benzaldehit eklenmesi ile kırmızı renk oluşumu gözlenir.

Mikroorganizmanın, karbon kaynağı olarak sitratı kullanıp kullanmadığını belirlemek için sitrat testi uygulanır. Sitratın kullanılması sonucu pH alkaliye döner. Bu olay sitratlı besiyerinde bulunan bromtimol indikatörünün, yeşilden maviye dönmesine sebep olur. *Enterobacteriaceae* üyelerinin tanımlanmasında, eskiden beri kullanılan bir test de IMVIC testidir. IMVIC testi; indol reaksiyonu (I), metil red kırmızısı reaksiyonu (M), Voges-Proskauer Reaksiyonu (V), sitrat reaksiyonu(C) denilen 4 reaksiyondan oluşur. *E.coli* için IMVIC testi sonucu (+++-) şeklinde iken, *Klebsiella* için IMVIC testi sonucu (--++) şeklindedir. Tablo 4'te *Enterobacteriaceae* ailesindeki belirli cinslerin hızlı tanısında kullanılan değerlendirmeler özetlenmiştir (Ustaçelebi, 1999).

2.1.6. Antijenik Yapı

Enterobacteriaceae ailesine üye türlerin tümünde ortak olarak "Enterobacterial Common Antigen" (ECA) bulunur. Bu antijen; hücre duvarındaki lipopolisakkarid tabakanın derin kısımlarında yer alan ortak bir antijendir. *Enterobacteriaceae* ailesinin

ayrıt edici özellikleri içinde en önemlilerinden biridir. *Enterobacteriaceae* ailesindeki bakterilerin tümünde, ECA'nin dışında karmaşık ve güçlü bir antijenik yapı mevcuttur. Bakterilerin temel antijenik yapıları incelendiğinde;

- Hücrenin dış duvarında bulunan somatik antijen (O antijeni),
- Kirpikli olan türlerde bulunan kirpik antijeni (H antijeni),
- Bazı bakterilerde bakteri duvarını çevreleyen bir katman, bazı bakterilerde ise bir yüzey maddesi şeklinde az miktarda bulunan kapsül antijeni (K antijeni)

olmak üzere 3 temel antijen yapısı olduğu belirlenmiştir (Ustaçelebi ve ark., 1999; Willke ve ark., 2002; Farmer ve ark., 2009).

Tablo 4. *Enterobacteriaceae* ailesindeki belirli cinslerin hızlı tanısında kullanılan değerlendirmeler (Ustaçelebi, 1999'dan)

| Hızlı laktoz fermentasyonu yapanlar | Yavaş laktoz fermentasyonu yapanlar | Laktozu fermente Etmeyenler |
|--|--|--|
| <i>E. coli</i> : MacConkeyde pembe, kırmızı, viskoz ve düzgün olmayan koloniler, hareketli | <i>Edwardsiella</i> <i>Serratia</i> | <i>Shigella</i> : Hareketsiz, glukozdan gaz yapmaz |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> : MacConkeyde pembe, viskoz ve düzgün koloniler, hareketli | <i>Citrobacter</i> <i>Arizona</i> | <i>Salmonella</i> : Hareketli, glukozdan asit ve gaz yapar |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> : MacConkeyde pembe, mukoid, çok viskoz koloniler, hareketsiz | <i>Providencia</i> <i>Erwinia</i> | <i>Proteus</i> : Kanlı agarda dalga dalga yayılır, üremeyi hızla hidrolize eder (Amonyak kokusu duyulur) |

2.1.7. Virülans Faktörleri

Enterobacteriaceae ailesine üye türlerin çok geniş bir yelpazede patojeniteye sahip oldukları bilinmektedir. Bazı türler, çok nadir olarak hastalık oluşturur ya da insanda enfeksiyon etkeni değildir. Bazıları ise; çok yüksek morbidite ve mortaliteye sahip fırsatçı enfeksiyon etkeni olan türlerdir. Patojenitelerindeki bu farklılık bakterilerin değişik virülans faktörlerine sahip olmaları ya da bu faktörlerin bulunmamasıyla açıklanmaktadır (Farmer ve ark., 2005).

Adhezinler

Adhezinler, mikroorganizmanın hedef hücreye tutunmasını sağlar. *Enterobacteriaceae* ailesindeki bakterilerde bulunan önemli adhezinler, fimbria ve dış membran proteinleridir (Willke ve ark., 2002; Donnenberg, 2005; Murray ve ark., 2005; Farmer ve ark., 2005)

Endotoksin

Hücre duvarındaki lipopolisakkarit tabakasının Lipid A kısmı, endotoksin özelliğindedir. Hayvanlara enjekte edilmesinden sonra; öldürücü şok, ateş, lökositlerde değişiklikler, enfeksiyonlara karşı konağın yanıtının değişmesi, tümörlerin gerilemesi, Sanarelli-Schwartzman reaksiyonu ve çeşitli metabolik farklılıklar gibi çeşitli etkiler görülmektedir. Endotoksinin üriner sistem veya yara enfeksiyonlarındaki rolü net değildir, buna karşın gram negatif bakteriyemi olan hastalarda ölümlere yol açmaktadır. Enterik bakteriyemi olan hastaların %30'unda endotoksik şok gelişir ve %40–90'ı ölümlerle sonuçlanmaktadır (Bilgehan, 2008).

Enterotoksin

Enterotoksinler, genellikle ince bağırsağı etkileyen, bağırsak lümeninde bol sıvı atılımına ve buna bağlı olarak da diyareye sebep olan kolera toksinine benzer toksinlerdir. Bu toksinler, bazı *E. coli*, *Salmonella*, *K. pneumoniae*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Citrobacter freundii* suşları tarafından salgılanmaktadır. *Shigella* ve *Salmonella* enfeksiyonlarında, enterotoksinin rolü tam bilinmemektedir. Bu enfeksiyonların patogeneğinde, dokuya penetrasyon önemlidir. Bağırsak içinde sinirsel reseptörleri stimüle eder ve refleks etkisiyle beraber kusma ve bağırsak hareketlerinin azalması sonucu besin zehirlenmesi oluşturur (Bilgehan, 2008).

Shigatoksin ve Shigatoksin Benzeri (Shigalike) Toksinler

Bazı *Shigella* suşlarında, memeli hücrelerinin protein sentezi mekanizmasını bozan shigatoksin oluşumu görülür. Bu toksine benzer toksinler, bazı *E. coli* suşları tarafından salgılanmaktadır. Bu toksinlerin etkisi ilk olarak Afrika yeşil maymunu (vero) dokularında görüldüğü için verotoksin olarak da adlandırılırlar. Verotoksin salgılayan *E. coli* suşları hemolitik üremik sendrom ve hemolitik diyareye neden olurlar (Ustaçelebi, 1999).

Hemolizinler

Hemolizinler, bir kısım *Enterobacteriaceae* üyelerine ait suşların salgıladığı ekstrasellüler salgılardır. Hemolizinlerin *E. coli* sebepli bazı hastalıklarda önemli olduğu gösterilmiştir. Bağırsak dışı enfeksiyonlardan izole edilen *E. coli* suşlarının yarısından çoğu hemolizin salgılar. Ancak GI sistem enfeksiyonuna neden olan *E. coli* suşlarının yalnızca %10'u hemolizin salgılar. Üropatojen *E. coli*'lerin çoğunda, hem P fimbria, hem de hemolizin vardır. Hemolizinlerin sitotoksik etkileri sadece eritrositlerle sınırlı değildir. Alfa hemolizinler, lenfositlere karşı daha etkin sitotoksinlerdir. Beta hemolizinler ise, nötrofillerin fagositozunu ve kemotaksisini önler. Hemolitik bakteri enfeksiyonlarından sonra kansızlık ve hemoglobüri görülebilir. (Ustaçelebi, 1999; Bilgehan, 2008).

Kapsül

Kapsül, birçok *Enterobacteriaceae* üyesinde bulunan bir yapıdır. Fagositozu önleyerek, bakteriyi serumun bakterisidal etkisinden korur. *K. pneumoniae*'nin üriner sistem epiteline kolonize olmasını sağlar. Yenidoğan sepsisi ve menenjitine neden olan *E. coli* K1 serotipinin kapsülü; bakterinin kan-beyin bariyerini geçmesinde yardımcı bir faktördür (Willke ve ark., 2002; Donnenberg, 2005; Murray ve ark., 2005; Farmer ve ark., 2005).

Bakteriyosinler

Bakteriyosinler, birçok gram negatif bakteri tarafından üretilen, benzer tür bakterilere karşı bakterisidal özellik gösteren maddelerdir. Bakteriyosinler bakteriye özel yapıdadır ve plazmid kontrolünde üretilir. *E. coli* tarafından üretilen bakteriyosine kolisin, *Klebsiella spp.* tarafından üretilene klebsin, *S.marcescens* tarafından üretilene de marcescin adı verilir (Gür, 2010).

2.1.8. Patogenez

Bakteriyel enfeksiyonların ilk basamağı organizmanın konağa girişidir. Enterik bakterilerin ilk adımı ise mukoza reseptörlerine tutunmak ve GI sisteme yerleşmektir. Enfeksiyonun belirtili döneminde dokuya invazyonu, toksin salınımı ve hücrelerde hasara kadar gelişen olaylara ilişkin belirtiler ortaya çıkar. Sonuçta konak bakterinin her ürününe karşı cevap vererek iyileşme gösterir. İnflamatuvar cevap hastalığın seyrini ve ağırlığını belirler (Ustaçelebi, 1999).

2.1.9. *Enterobacteriaceae* Enfeksiyonları

Enterobacteriaceae üyeleri normalde GI sistem dışında, vücudun başka bölgelerinde yer almaz. GI sistem dışındaki bulaştığı ve yerleştiği bölgelerde ciddi enfeksiyonlara yol açabilirler. *Shigella spp.*, GI sistem dışında çok nadiren enfeksiyonlara yol açar. Bu türler hariç *Enterobacteriaceae* üyelerinin pek çok türü, sık sık bağırsaklar dışında enfeksiyonlara neden olur. Bu enfeksiyonlardan ÜSE (öncelikle sistit) en sık görülendir. Buna ek olarak kan, solunum sistemi, yara ve merkezi sinir sisteminde; menenjit, septisemi, pnömoni ve abselere sebep olurlar. Menenjit ve sepsis hayatı tehdit edecek kadar ağır seyreder. GI sistem enfeksiyonları dışındaki enfeksiyonlara en çok sebebiyet veren *Enterobacteriaceae* türleri;

- *Escherichia coli*,
- *Klebsiella pneumoniae*,
- *Klebsiella oxytoca*,
- *Proteus mirabilis*,
- *Enterobacter cloacae*,
- *Enterobacter aerogenes*,
- *Citrobacter spp.*,
- *Serratia marcescens*'dir.

Enterobacteriaceae ailesine ait çeşitli mikroorganizmalar, insanlarda ve hayvanlarda önemli bağırsak enfeksiyonlarına neden olurlar. Çoğu cinslere ait suşlar diyareye neden olmakla beraber, asıl diyare etkeni olan türler başlıca dört *Enterobacteriaceae* cinsi içinde toplanmaktadır;

- Çeşitli *Escherichia coli* serotipleri,
- *Salmonella* serotipleri,
- *Shigella* türleri,
- *Yersinia enterocolitica*.

Enterobacteriaceae üyeleri içinde önemli özel enfeksiyonlara neden olan türler de bulunmaktadır. Bunlardan *Yersinia pestis* veba hastalığına; *S. typhi* de tifo hastalığına sebep olur. Günümüzde *Enterobacteriaceae* üyeleri, hastane enfeksiyonlarının en büyük sebepleridir. Servis hastaları, çeşitli faktörlerden dolayı *Enterobacteriaceae* üyelerinin yerleşmesine ve enfeksiyon oluşmasına karşı çok hassaslardır. Hastane enfeksiyonlarına yol açan *Enterobacteriaceae* üyeleri içinde *E. coli* en başta bulunmaktadır. Bulunma

sıklıklarına göre hastane enfeksiyonlarından izole edilen *Enterobacteriaceae* üyeleri sırasıyla;

- *E. coli*,
- *Enterobacter* türleri,
- *K. pneumoniae*,
- *P. mirabilis*,
- *Citrobacter* türleri,
- *S. marcescens*'tir.

Enterobacteriaceae ailesine üye çeşitli bakterilerin sıklıkla neden olduğu enfeksiyonlar Tablo 5'te belirtilmiştir.

Tablo 5. *Enterobacteriaceae* ailesine üye çeşitli bakterilerin sıklıkla neden olduğu enfeksiyonlar (Ustaçelebi,1999'dan)

| Bakteri Türü | İnfeksiyonlar |
|------------------------------|---|
| <i>E. coli</i> | Üriner enfeksiyon, sepsitemi, neonatal sepsis, menenjit ve diyare |
| <i>Shigella spp.</i> | Dizanteri, diyare |
| <i>Edwardsiella spp.</i> | Diyare, yara enfeksiyonu, sepsitemi, menenjit, tifo benzeri tablo |
| <i>Salmonella spp.</i> | Tifo, sepsitemi, diyare |
| <i>Citrobacter spp.</i> | Yara ve üriner enfeksiyon (fırsatçı ve hastane enfeksiyonları) |
| <i>Klebsiella spp.</i> | Üriner enfeksiyon, pnömoni, sepsitemi |
| <i>Enterobacter spp.</i> | Yara enfeksiyonu, sepsitemi, üriner enfeksiyon (fırsatçı ve hastane enfeksiyonları) |
| <i>Serratia spp.</i> | Yara enfeksiyonu, sepsitemi, üriner enfeksiyon (fırsatçı ve hastane enfeksiyonları) |
| <i>Proteus spp.</i> | Yara enfeksiyonu, sepsitemi, üriner enfeksiyon |
| <i>Providencia spp.</i> | Yara enfeksiyonu, sepsitemi, üriner enfeksiyon (fırsatçı ve hastane enfeksiyonları) |
| <i>Morganella spp.</i> | Fırsatçı ve hastane enfeksiyonları |
| <i>Yersinia pestis</i> | Veba |
| <i>Y. pseudotuberculosis</i> | Mesenterik adenit, diyare |
| <i>Y. enterocolitica</i> | Mesenterik adenit, diyare |
| <i>Erwinia spp.</i> | Yara enfeksiyonu |
| <i>Pectobacterium spp.</i> | Yara enfeksiyonu |

2.1.10. Bakteriyolojik Tanı

Enterobacteriaceae üyelerinin büyük çoğunluğu Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin olarak kullanılan genel üretim besiyerlerinde kolaylıkla üreyebilir. *Enterobacteriaceae* enfeksiyonu şüphesiyle gönderilen bir örneğin kültürü için kanlı agara ekim yapılması yeterlidir. Bunun yanında MacConkey agar ya da EMB agar gibi bir seçici ayırıcı besiyerine ekim yapılması sonraki aşamada bakteri tanımlaması için kolaylık sağlayacaktır (Willke ve ark., 2002; Farmer ve ark., 2009).

Farklı karbonhidratları fermente etme, glikozdan gaz oluşturma, indol, metil kırmızısı, Voges-Proskauer, ONPG deneyleri, lipaz, üreaz, fenilalanin deaminaz, arginin, lizin, ornitin dekarboksilaz aktiviteleri, hareket, jelatini eritme, potasyum siyanürlü ortamda üreme gibi özellikleri bu bakterilerin tanımlanmalarında sıklıkla kullanılan deneylerdir (Winn ve ark., 2006; Ustaçelebi, 1999).

2.1.11. Antimikrobiyal Direnç

Enterobacteriaceae ailesine üye bakterilerde antibiyotik direnci; intrinsik ve kazanılmış olmak üzere iki tip direnç mekanizması ile oluşmaktadır. İntrinsik tipte direnç; antibiyotik kullanımı ile ilişkisi olmayan, bakteride doğal olarak bulunan kromozomal dirençtir. Klinik bir örnekten izole edilen bakterinin intrinsik dirençli olduğu bilinen ilaçlara karşı duyarlılık testleri yapılmamalı ve raporda bildirilmemelidir. Birçok türde ampisiline, sefazoline ve polimiksinlere doğal direnç olduğu bilinmektedir. Tablo 6'da, çeşitli *Enterobacteriaceae* türlerinin özel olarak direnç gösterdiği bazı antibiyotikler görülmektedir.

Kazanılmış direnç ise antibiyotik kullanımının selektif baskısı sonucu suşların çoğunda görülen dirençtir. Bu bakterilerde antimikrobiallere direnç özelliği, genellikle plazmidler aracılığı ile diğer bakterilere aktarılabilen ve direnç yayılabilmektedir. Kromozomal yerleşimli direnç genleri de transpozonlar aracılığıyla bakteriler arasında aktarılabilir. Bakteriden bakteriye direnç genlerinin geçişine aracılık eden bu mekanizmalar *Enterobacteriaceae* ailesinde çok yaygındır. Buna bağlı olarak da antimikrobiyal direnç kolayca yayılabilmektedir. Direnç oranları coğrafik bölgelere ve türlere göre farklılık göstermektedir. Özellikle antimikrobiallerin çok yoğun olarak kullanıldığı hastane ortamlarında dirençli bakterilerin seleksiyonu sonucu antimikrobiyal direnç, hastane enfeksiyonlarında sıklıkla rastlanan bakteriler olan *Enterobacteriaceae*

üyelerinde boyutu giderek büyüyen bir sorun haline gelmiştir (Gür, 2004; Berkiten, 2005; Farmer ve ark., 2005; Murray ve ark., 2005; Farmer ve ark., 2009).

Tablo 6. Çeşitli *Enterobacteriaceae* türlerinde özel olarak direnç gözlenen bazı antibiyotikler (Ustaçelebi, 1999'dan)

| Bakteri | Dirençli Olunan Antibiyotik |
|-----------------------------------|---|
| <i>Citrobacter amalonaticus</i> | Ampisilin |
| <i>Citrobacter freundii</i> | Sefalotin |
| <i>Citrobacter diversus</i> | Sefalotin, Karbenisilin |
| <i>Edwardsiella tarda</i> | Kolistin |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | Sefalotin |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> | Sefalotin |
| Diğer <i>Enterobacter</i> türleri | Sefalotin |
| <i>Escherichia hermannii</i> | Ampisilin, Karbenisilin |
| <i>Ewingella Americana</i> | Sefalotin |
| <i>Hafnia alvei</i> | Sefalotin |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | Ampisilin, Karbenisilin |
| <i>Proteus mirabilis</i> | Polimiksinler, Tetrasiklin, Nitrofurantoin |
| <i>Proteus vulgaris</i> | Polimiksinler, Ampisilin, Nitrofurantoin, Tetrasiklin |
| <i>Morganella morganii</i> | Polimiksinler, Ampisilin, Sefalotin |
| <i>Providencia rettgeri</i> | Polimiksinler, Sefalotin, Nitrofurantoin, Tetrasiklin |
| Diğer <i>Providencia</i> türleri | Polimiksinler, Nitrofurantoin |
| <i>Serratia marcescens</i> | Polimiksinler, Sefalotin, Nitrofurantoin |
| <i>Serratia fonticola</i> | Ampisilin, Karbenisilin, Sefalotin |
| Diğer <i>Serratia</i> türleri | Polimiksinler, Sefalotin |

2.1.12. Enterobacteriaceae Enfeksiyonlarının Tedavisi

Yeni antibiyotiklerin keşfedilmiş olmasına rağmen, *Enterobacteriaceae* üyelerinin yol açtığı enfeksiyonların yeterli tedavisi günümüzde halen zordur. Bu enfeksiyonların tedavisini zorlaştıran faktörlerden biri, hastalarda altta yatan hastalığının tedaviyi güç kılmasıdır. Altta yatan hastalık ile ilgili ölümler görülmektedir. Tedaviyi güçleştiren bir başka faktör ise, dirençli *Enterobacteriaceae* üyelerinin olması ve bunların oranının gitgide artmasıdır. Yetersiz veya yanlış antibiyotik kullanımları bakterilerde direnç oranlarını arttırdığı gibi, direncin yayılmasına da neden olur. Antibiyotik kullanma alışkanlığına ve tercih edilen antibiyotiğe bağlı olarak her ortam

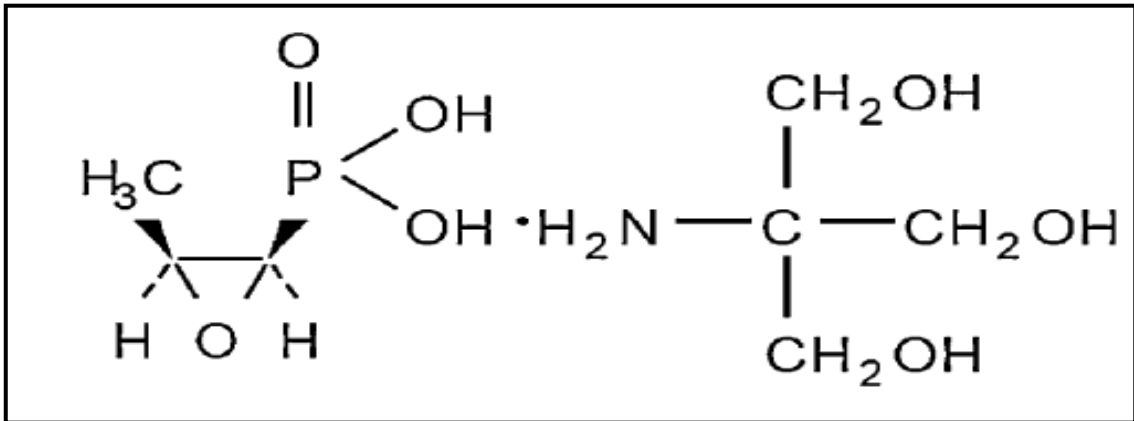
kendine özgü bakteri dağılımını ve antibiyotik direncini oluşturur. Yeni bir antibiyotiğe bakteri ilk başta duyarlı iken, özellikle yanlış antibiyotik kullanımı sonucu direnç gelişimi görülür ve tedavide başarısızlıklar ortaya çıkar.

Enterobacteriaceae enfeksiyonlarının tedavisi; mikroorganizmanın duyarlılığı, enfeksiyon yeri, tipi ve hastanın durumuna uygun antibiyotik seçimi dikkate alınarak planlanmalıdır (Ustaçelebi, 1999; Yaylı ve Aksoy, 2003). *Enterobacteriaceae* üyesi bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarının tedavisinde seçilebilecek antibiyotiklerin listesi Tablo 7’de görülmektedir.

2.2. Fosfomisin

Fosfomisin, ilk kez 1969 yılında İspanya’da *Streptomyces* kültürlerinden elde edilmiş ve önceleri fosfonomisin olarak adlandırılmıştır (Schito, 2003). Fosfomisin, son derece düşük molekül ağırlıklı bir fosfonik asit türevi olup, bu özelliği proteinlere neredeyse hiç bağlanmadığını gösterir. Fosfomisin, bilinen herhangi bir antibakteriyel maddeyle kimyasal olarak ilgisi olmayan eşsiz bir antibiyotiktir. Kimyasal formülü $C_3H_7O_4P.C_4H_{11}NO_3$ şeklindedir ve kimyasal yapısı Şekil 1.’de gösterilmiştir (Michalopoulos ve ark., 2011).

Fosfomisinin oral olarak kullanılabilirdiği iki formülasyon vardır, bunlar fosfomisin trometamol ve fosfomisin kalsiyumdur. Fosfomisin trometamol, sentetik olarak hazırlanmış, biyoyararlanımı olan çözünebilir bir tuzdur. Fosfomisin kalsiyuma kıyasla emilimi daha kolay olduğu için oral yoldan uygulanmada tercih edilen formülasyon fosfomisin trometamoldur. Fosfomisinin oral formülasyonu dışında, intravenöz olarak kullanılabilen fosfomisin disodyum formülasyonu da vardır.



Şekil 1. Fosfomisinin kimyasal yapısı (Michalopoulos ve ark., 2011’den)

Tablo 7. *Enterobacteriaceae* üyesi bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarının tedavisinde seçilebilecek antibiyotikler (Ustaçelebi, 1999'dan uyarlanmıştır)

| | |
|--|---|
| <p><u>Penisilinler</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Ampisilin • Ampisilin – Sülbaktam • Amoksisilin • Amoksisilin – Klavulanik Asit • Piperasilin • Piperasilin – Tazobaktam • Tikarsilin • Tikarsilin – Klavulanik Asit | <p><u>Sefalosporinler</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Sefadroksil • Sefaleksim • Sefazolin • Sefepim • Sefiksim • Sefotaksim • Sefpodoksim • Seftarolin • Seftazidim • Seftibuten • Seftobiprol • Seftolozan-tazobaktam • Seftriakson |
| <p><u>Karbapenemler</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Doripenem • Ertapenem • İmipenem • Meropenem | |
| <p><u>Aminoglikozidler</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Amikasin • Gentamisin • Netilmisin • Tobramisin | <p><u>Florokinolonlar</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Siprofloksasin • Pefloksasin • Levofloksasin • Moksifloksasin • Norfloksasin • Ofloksasin |
| <p><u>Çeşitli antimikrobik ajanlar</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Kloramfenikol • Kolistin • Fosfomisin • Nitrofurantoin • Trimetoprim • Trimetoprim – Sülfametaksazol | <p><u>Monobaktamlar</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Aztreonam |
| | <p><u>Tetrasiklinler</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Tigesiklin |

2.2.1. Etki Mekanizması

Bir fosfoenol pirüvat analogu olan fosfomisin; *Streptomyces fradiae*, *Streptomyces viridochromogenes* ve *Streptomyces wedmorensis* türlerinin fermentasyon ürünüdür (Greenwood, 2003). Bakteri hücre duvarını oluşturan peptidoglikan tabakası, NAG ve NAMA birbirini takip eden birimlerinin, pentapeptid çapraz bağları ile bağlanması sonucu oluşmaktadır. Bakterinin hücre duvarı sentezinde ilk basamak sitoplazmada gerçekleşmekte ve bu basamak, UDP-NAG'ın 3'-hidroksil grubundan

inorganik fosfatın ayrılması ile fosfoenol pirüvattan gelen enol pirüvatin UDP-NAG'a eklenmesini içermektedir. Bu reaksiyon, *E. coli* gibi bakterilerde gerekli temel bir sitoplazmik enzim olan MurA enzimi tarafından katalize edilir. MurA enziminin inaktivasyonu, peptidoglikan sentezini engelleyerek hücresel bütünlüğün kaybolmasına ve bakterinin ozmotik parçalanmasına yol açmaktadır (Kumar ve ark., 2009). Fosfomisin, MurA enziminin 115. sistein kalıntısına geri dönüşümsüz olarak kovalent yolla bağlanmakta, böylece MurA enzimini inhibe ederek UDP-NAMA oluşumunu önlemekte ve antibakteriyel etkinliğini, peptidoglikan tabakasının sentezini engelleyerek göstermektedir. Yapılan *in vitro* çalışmalarda, fosfomisinin duyarlı bakteriler üzerinde bakterisidal etkinliğini 30 dakika içinde gösterdiği ortaya konmuştur (Neuman, 1984; Schito, 2003; Greenwood, 2003; Yao ve ark.,2007; Falagas ve ark., 2008; Garau, 2008; Hoşbul ve ark., 2009).

Fosfomisin ayrıca, bakteri fimbrialarının sentezini ve hareket yeteneklerini azaltarak hem gram pozitif hem de gram negatif üropatojenlerin üriner sistem epitelyumuna ve idrar kateterlerinin iç yüzeyine yapışmasını ve kolonizasyonunu engellemekte, inhibitör konsantrasyonların altında kalsa bile antiadeziv etki oluşturabilmektedir. Adeziv özellik, bakteriye hücre yüzeyine yapışabilme, idrar akımına karşı koyabilme, mesane yüzeyinde birikebilme ve dokulara girebilme özelliklerini kazandırmakta; bu özellik, alt ÜSE patogeneğinde anahtar faktör görevi görmektedir.

Fosfomisin, biyofilm tabakalarına geçerek mikroorganizmalar üzerinde etkinliğini sürdürebilme özelliğine sahiptir. Düşük inhibitör konsantrasyonlarda bile fosfomisinin, *E.coli*'nin plazmid transferi yapabilme ve patojenite ile ilgili enzimleri sentezleme yeteneğinde zayıflamaya neden olduğu da gösterilmiştir (Schito, 2003; Greenwood, 2003; Garau, 2008).

Fosfomisin aminoglikozidlerle beraber verildiğinde aditif veya sinerjistik antibakteriyel aktivite görülmekte; aynı zamanda aminoglikozidlerin nefrotoksik etkisinde azalmaya neden olmaktadır (Schito, 2003; Greenwood, 2003; Garau, 2008). Aminoglikozidlerin nefrotoksitesinde fosfomisinin koruyucu etkisi; deneysel olarak hem farelerde hem de insanlarda nefrotoksitesinin farklı erken belirteçleri (kan üre seviyesi, tübüler hücrelerin üriner ekskresyonu vb.) araştırılarak gösterilmiştir (Schito, 2003; Greenwood, 2003; Garau, 2008). Fosfomisinin, deneysel olarak *in vitro* ortamda fare böbreklerinde lizozomal membranın bütünlüğünü koruduğu saptanmıştır. Aynı

zamanda fare modelinde yapılan bir çalışmada fosfomisin, dibekasin tarafından oluşturulan deneysel renal yetmezliğe karşı doza bağımlı olarak koruyucu etki gösterdiği anlaşılmıştır (Neuman, 1984).

2.2.2. Antibakteriyel Aktivitesi

Fosfomisin, kendine özgü farmakolojik özellikleri ve terapötik aralığıyla geniş antimikrobiyal spektruma sahip olup alt ÜSE tedavisinde önerilen spesifik bir antibiyotiktir (Garau, 2008). Fosfomisin, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve glikopeptidlere duyarlı veya dirençli *Enterococcus spp.* gibi gram pozitif ve birçok antibiyotiğe dirençli *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Salmonella* cinslerine ait türler ile *E. coli* gibi gram negatif patojenlerin çoğuna karşı, hızlı bakterisidal aktiviteye sahiptir (Patel ve ark., 1997; Minassian ve ark., 1998; Greenwood, 2003; Afşar ve ark., 2005; Falagas ve ark., 2007; Göker ve ark., 2007; Falagas ve ark., 2008; Köken ve ark., 2008; Hoşbul ve ark., 2009). Gram negatif basillere karşı (*Pseudomonas aeruginosa* suşları hariç), gram pozitif koklardan daha etkilidir. *In vitro* çalışmalarda, fosfomisin, bir grup beta-laktam antibiyotikler, aminoglikozidler ve diğer bazı ajanlar ile birlikte kullanılmasının; solunum, dolaşım ve üriner sistem enfeksiyonlarının bakteriyel etkenlerine karşı sinerji oluşturduğu gösterilmiştir (Neuman, 1984; Greenwood, 2003; Falagas ve ark., 2008). Benzer şekilde *Acinetobacter baumannii* fosfomisine dirençli olmakla birlikte aminoglikozidlerle kombine edilmesi, bu etkene karşı sinerjistik etki yaratabilmektedir (Greenwood, 2003; Falagas ve ark., 2008). *Pseudomonas*, *Morganella morganii* ve *Staphylococcus saprophyticus* izolatlarının sırasıyla %40, %80 ve %20'sinin fosfomisine dirençli olduğu belirtilmektedir (Yao ve ark., 2007). Minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK), MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri, *P. aeruginosa* için sırasıyla 32 ve 64 g/ml; *S. aureus* için ise 8 ve 16 µg/ml'dir. *Bacteroides fragilis* ve diğer *Listeria* türlerinden farklı olarak *L. monocytogenes* de fosfomisine dirençlidir (Falagas ve ark., 2008).

Fosfomisin bileşiklerinin bakteri hücrelerine girişi, çoğu *Enterobacteriaceae* üyesi bakteride glukoz-6-fosfat (G6F) tarafından indüklenir (Greenwood, 2003). Fosfomisin, deneysel enfeksiyonlardaki etkinliği, G6F'nin eş zamanlı uygulanmasıyla artırılmıştır. G6F, glikolizinin gerçekleştiği yerlerde hücre içinde mevcuttur; ancak doku içindeki içeriği genellikle düşüktür. Ayrıca G6F, serum veya beyin omurilik sıvısı (BOS)'nda mevcut değildir ve muhtemelen enfeksiyon bölgelerinde suboptimal

düzyededir. *In vitro* duyarlılık test materyaline 25 µg/ml G6F eklendiğinde fosfomisinin etkinliği büyük oranda artmakta, bu etkinlik *in vivo* etkinliğe yaklaşmakta ve *in vivo* ve *in vitro* aktiviteler arasındaki korelasyon daha iyi olmaktadır. Bu yüzden duyarlılık testlerinde, 25 µg/ml G6F eklenmiş agar ve buyyon dilüsyon yöntemleri tavsiye edilmektedir (Greenwood, 2003; Yao ve ark., 2007). Disk difüzyon yönteminde kullanılan 200 µg fosfomisin trometamin diski aynı zamanda 50 µg/ml G6F içermektedir (Barry ve ark., 1993; Yao ve ark., 2007; CLSI, 2008). Trometamin tuzunun fosfomisine yakın bir moleküler ağırlığa sahip olması nedeniyle, fosfomisin trometamin, *in vitro* duyarlılık testlerinde diğer türevlerinin yarısı kadar aktivite göstermektedir (Greenwood, 2003). Fosfomisin *in vitro* aktivitesi, ayrıca test materyali ve ortam koşullarından etkilenmektedir. Alkali pH'da ve glukoz, fosfat ve sodyum klorid varlığında etkinlik azalmakta; dolayısıyla antibiyotik duyarlılık testlerinde kullanılan besiyerlerinin içeriklerine bağlı olarak farklı sonuçlar elde edilebilmektedir. Basit besleyici buyyon veya agarda gözlenen inhibisyon konsantrasyonları, genellikle Mueller-Hinton (MH) besiyerinden daha düşüktür (Greenwood, 2003; Yao ve ark., 2007).

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterlerine göre, disk difüzyon yönteminin 50 µg G6F içeren 200 µg fosfomisin diski kullanılarak *Enterococcus* cinsinden sadece *E. faecalis*'in, *Enterobacteriaceae* ailesinden ise sadece *E. coli*'nin idrar örneği izolatlarının fosfomisin duyarlılığının belirlenmesi için kullanımı önerilmektedir. *E. coli* ve *E. faecalis* izolatları için fosfomisin trometamin diskinin inhibisyon zon çapı ≤ 12 mm ise dirençli, 13-15 mm ise orta duyarlı ve ≥ 16 mm ise duyarlı olarak değerlendirilir. *E. coli* ve *E. faecalis* izolatları için direnci belirleyen eş değer MİK sınır değeri, CLSI kriterlerine göre ≥ 256 µg/ml olanlar dirençli, ≤ 64 µg/ml olanlar ise duyarlı olarak kabul edilir. Fosfomisin MİK değerleri, 25 mg/L G6F ilavesi yapılmış MH kullanılarak yalnızca agar dilüsyon yöntemiyle saptanmalıdır. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılmamalıdır. Sonuçlar 35°C'de normal atmosferik ortamda 18-20 saatlik inkübasyondan sonra değerlendirilmektedir (CLSI, 2017).

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) kriterlerine göre ise; disk difüzyon yönteminin, 50 µg G6F içeren 200µg fosfomisin diski kullanılarak *Enterobacteriaceae* ailesine üye türlerden yalnızca *E. coli*'nin fosfomisin duyarlılığının belirlenmesi için kullanımı önerilmektedir. Diğer türler için MİK metotları kullanılmalıdır. MHA'da 0,5 McFarland standardı kullanılarak 35 ± 1°C ısı aralığında ve

normal atmosfer koşullarında 18 ± 2 saatlik inkübasyon sonrasında gerçekleştirilen disk difüzyon duyarlılık testinde, *E. coli* için fosfomisin diskinin inhibisyon zon çapı < 24 mm ise dirençli ve ≥ 24 mm ise duyarlı olarak değerlendirilir. İnhibisyon zonu içerisinde, zonu tamamen kaplamayacak şekilde bakteri üremesi varsa ihmal edilmeli ve dış zon dikkate alınmalıdır. *Enterobacteriaceae* ailesine üye türler ve *Staphylococcus spp.* izolatları için direnci belirleyen eş değer MİK sınır değeri, EUCAST kriterlerine göre ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$ olanlar dirençli, < 32 $\mu\text{g/ml}$ olanlar ise duyarlı olarak kabul edilir. EUCAST'a göre bu türler için fosfomisin duyarlılığının belirlenmesinde referans yöntem agar dilüsyon yöntemidir. MİK değeri belirlenirken besiyerinde 25 mg/L G6F olması gerekmektedir. Sonuçlar, $35 \pm 1^\circ\text{C}$ ısı aralığında ve normal atmosfer koşullarında 18 ± 2 saatlik inkübasyondan sonra değerlendirilmektedir, (EUCAST, 2018).

Trometamin tuzu, komplike olmayan alt ÜSE olan erişkinlerde oral 3 g tek doz olarak değişik ticari isimler altında, günümüzde İngiltere, İtalya, İspanya, İsveç, İsviçre, Fransa, Belçika, Hollanda, Avustralya, Almanya, Portekiz, Brezilya, Amerika Birleşik Devletleri, Meksika, İsrail, Finlandiya, Kanada ve Güney Afrika gibi birçok gelişmiş ülkede ruhsatlı olarak kullanılmaktadır (Warren ve ark., 1999; Greenwood, 2003).

2.2.3. Direnç Mekanizması

Fosfomisin direnci üç mekanizma ile ilişkilidir. Bunlardan ikisi kromozom üzerinde yer alırken, üçüncüsü ise plazmid kökenlidir (Etienne ve ark., 1989). Fosfomisine karşı bakteriyel direnç; sıklıkla kromozomal olarak kodlanmış transport sistemleri *glpT* ve/veya *uhpT*'nin inaktivasyonu ya da bu transport sistemlerin regülasyonunda görevli genler *uhpA*, *cyaA* ve *ptsI*'in inaktivasyonu, antibiyotik hedefi olan MurA enziminin inaktivasyonu ve daha az olarak da plazmidlerce kodlanan fosfomisin modifiye edici enzimler sebebiyle oluşmaktadır (Hori ve ark., 1999; Beharry ve Palzkill, 2005; Castaneda-Garcia ve ark., 2013).

Mutasyonel Direnç

Yapılan çalışmalar incelendiğinde en sık karşılaşılan direnç mekanizmasının, transport sistemlerin yapısal veya düzenleyici genlerindeki mutasyonlar nedeniyle, fosfomisinin sitoplazmaya taşınmasının engellenmesi olduğu görülmüştür (Castaneda-Garcia ve ark., 2013). *E. coli*'de, *glpT*, *uhpT* veya *uhpA*'daki amino asit değişikliklerine yol açan eklemeler, delesyonlar veya mutasyonlar fosfomisin alımının zayıflaması ve hem *in vitro*, hem de *in vivo* olarak duyarlılığın azalması ile ilişkilendirilmiştir. Alternatif

olarak, *cyaA* ve *ptsI* kodlayan genlerdeki mutasyonların, siklik AMP'nin hücre içi seviyelerini azalttığı, bunun da *glpT* ve *uhpT* seviyesini, dolayısıyla da hücre içi fosfomisin seviyesini azalttığı bilinmektedir (Cordaro ve ark., 1976).

Bunların dışında antibiyotiğin hedefi olan MurA'yı kodlayan gendeki mutasyonların, fosfomisin için afinitiyi azaltarak organizmanın ilaca duyarlılığını azalttığı gösterilmiştir (Verkates ve ark., 1972; Kim ve ark., 1996; Takahata ve ark., 2010). Bu nitelikteki değişiklikler nadirdir ve peptidoglikan sentezini ve bakteriyel uygunluğu bozduğu gösterilmiştir (Castaneda-Garcia ve ark., 2013). Hem *in vitro* hem de klinik izolatlarda seçilen mutantlarda MurA enziminin aşırı ekspresyonu raporlanmıştır. Bu mekanizmanın fosfomisin moleküllerini doymak ve böylece normal hücre fonksiyona izin vermek için ortaya çıktığı öne sürülmüştür (Horii ve ark., 1999; Couce ve ark., 2012).

Plazmid Aracılı Direnç

Fosfomisini inaktive eden, çeşitli plazmid aracılı fosfomisin modifiye edici enzimler bulunmaktadır. Fosfomisin modifiye edici temel enzimler metalloenzimler, kinazlar; FomA ve FomB ve *fos* enzimleri; *fosA*, *fosB* ve *fosX*'tir. Metalloenzimler, çeşitli substratların eklenmesiyle epoksit halkasını açarak fosfomisinin inaktive olmasına yol açarlar (Castaneda-Garcia ve ark., 2013; Yang ve ark., 2017). FomA ve FomB, fosfomisin üreten bir tür olan *Streptomyces wedmorensis* kaynaklı kinazlardır (Kuzuyama ve ark., 1996). Bu kinaz enzimleri fosfomisinin fosfonat kısmına, fosfat grupları ekler. Tam bilinmemekle birlikte bu enzimlerin, fosfomisin üreten *Streptomyces wedmorensis* türlerinde otodirenç sağladıkları düşünülmektedir (Kim ve ark., 2012). *fos* enzimleri ise; oksiran halkasının açılmasını katalizleyerek fosfomisinin inaktif hale gelmesine neden olurlar (Rigsby ve ark., 2005; Mendes ve ark., 2016).

fosA, *fosB* ve *fosX* olmak üzere üç ana *fos* enzimi raporlanmıştır. *fosA*, bir Mn^{+2} ve K^+ bağımlı bir glutatyon transferazdır. *fosB*, Mg^{+2} bağımlı bir L-sistein tiyol transferazdır. *fosX* ise Mn^{+2} bağımlı bir fosfomisin spesifik epoksit hidrolazdır. Her biri sırasıyla glutatyon, L-sistein ve suyun fosfomisin oksiran halkasının C1'ine ilavesini katalizler ve fosfomisinin inaktif hale gelmesine neden olur. (Fillgrove ve ark., 2003; Rigsby ve ark., 2005). Bu enzimler tarafından katalizlenen reaksiyonlar Şekil 2'de gösterilmiştir (Rigsby ve ark., 2005).

fosA, ilk olarak 1980 yılında *S. marcescens* suşunda, plazmid içinde, TN2921 transpozonu üzerinde keşfedilmiş; sekansı ve özellikleri 1990 yılında belirlenebilmiştir (Mendoza ve ark., 1980; Navas ve ark., 1990). Plazmid kaynaklı olan diğer *fosA* tipi enzimler *fosA3*, *fosA4*, *fosA5* ve *fosC2*'dir (Silver, 2017).

fosB, *fosA* ile ilişkili bir tiyol-S-transferazdır. İlk olarak bir *S.epidermidis* suşunda keşfedilmiştir. Fosfomisin direnç geni *fosB*, glutatyon üretmeyen *B. subtilis*, *B. anthracis*, *S. epidermidis* ve *S. aureus* gibi birçok gram pozitif bakteride kromozom ve plazmidlerde tanımlanmıştır (Etienne ve ark., 1989;1991; Zilhao ve Courvalin., 1990; Cao ve ark., 2001; Rigsby ve ark., 2005).

fosX, *fosA* ve *fosB* enzimleri ile ilişkili, Mn^{+2} bağımlı bir epoksit hidrolazdır ve oksiran halkasını kırmak için su kullanır. *fosX* enzimleri *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* ve *Brucella melitensis*'te bulunur (Castaneda-Garcia ve ark. 2013).

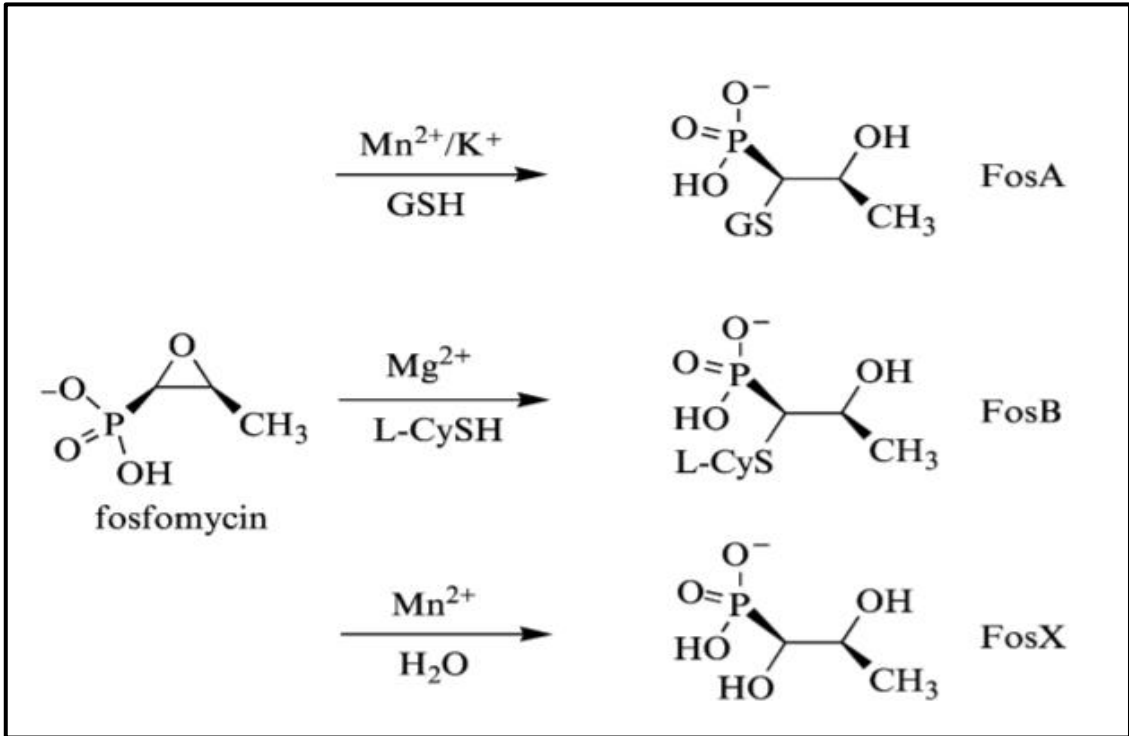
2.2.4. *fosA3* ve *fosC2* Genleri

fosA tipi direnç genleri içerisinde en sık bildirilen plazmid aracılı *fosA* geni Doğu Asya'da *E. coli* ve diğer *Enterobacteriaceae* türlerinde yaygın olarak bulunan *fosA3* genidir (Wachino ve ark., 2010; Ho ve ark., 2013; Jiang ve ark., 2015). Son zamanlarda yapılan çalışmalar GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarında gözlenen fosfomisin direncinin artışı, esas olarak plazmid aracılı *fosA3* genlerinin yaygın olarak ortaya çıkmasına bağlanmaktadır (Wachino ve ark., 2010; Lee ve ark., 2012; Yao ve ark., 2016; Cao ve ark., 2017). *fosA3* geni, ilk olarak Japonya'da GSBL üreten klinik *E. coli* izolatlarında tanımlanmıştır (Wachino ve ark., 2010). Bunun ardından yapılan çalışmalarda Çin'de çiftlik hayvanlarında, evcil hayvanlarda ve insan klinik örneklerinde; Güney Kore'de insanda GSBL üreten *Enterobacteriaceae* izolatlarında ve Japonya'da sağlıklı bireylerde görülmüştür (Lee ve Ark. 2012; Ho ve Ark. 2013; Hou ve Ark. 2013; Sato ve Ark. 2013).

fosA3 geni prevalansı, özellikle evcil hayvanlar ve sahiplerinden izole edilen *Enterobacteriaceae* izolatlarında yüksektir ve bu direnç geni konjugasyon yoluyla kolayca aktarılabilir. Evcil hayvanlar *fosA3* geni taşıyan *Enterobacteriaceae* izolatları için rezervuar haline gelmiştir. Yapılan çalışmalar, Doğu Asya'daki *fosA3* genlerinin hayvanlar ve diğer kaynaklar aracılığı ile kıta içi ve kıtalar arası geçiş potansiyelini göstermektedir. *fosA3* geni taşıyan plazmidlerin veya *fosA3* geni taşıyan

klonların, evcil hayvanlar ve insanlar arasındaki iletimi, gelecekte enfeksiyonlar için klinik tedavi seçeneklerini sınırlandıracağından endişe vericidir (Yao ve ark., 2016; Yang ve ark., 2017).

Fosfomisin dirençli *Enterobacteriaceae* izolatlarında sık araştırılan bir diğer plazmid aracılı fosfomisin direnç geni *fosC2*'dir. *fosC2* geninin, *fosA* geni ile aminoasit dizisi benzerliği %56'dır. *fosA* ve *fosC2* genleri arasında farklı diziler olmasına rağmen, her iki direnç geni de glutatyon S-transferaz aracılığıyla fosfomisini modifiye eder.



Şekil 2. *fosA*, *fosB* ve *fosX* enzimlerince katalizlenen reaksiyonlar (Rigsby ve ark., 2005'ten)

fosC2 direnç geni de *fosA3* direnç geni gibi ilk olarak Japonya'da GSBL üreten klinik *E. coli* izolatlarında tanımlanmıştır (Wachino ve ark. 2010). Class I integronlarda, farklı direnç genleri ile birlikte *fosC2* direnç geni tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda bir plazmid içinde *fosC2*, *dfrA17* ve *aadA5* genlerini taşıyan bir class I integronunun ve çoklu ilaç dirençli (MDR) plazmidlerde *fosC2* ve *bla*_{IMP-34} genlerinin varlığı gösterilmiştir (Wachino ve ark. 2010; Wang ve ark., 2015). Bu veriler *fosC2* geninin antibiyotiklere karşı yanıt oluşturmak için, integronlar aracılığı ile sonradan kazanıldığını gösterir (Yang ve ark., 2017).

3. MATERYAL VE METOT

Çalışmaya Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarına Ocak 2015 ve Aralık 2016 tarihleri arasında gönderilen üriner sistem örneklerinden elde edilen 461 fosfomisin dirençli *Enterobacteriaceae* izolatı içinden random seçilen 185 *Enterobacteriaceae* izolatı dahil edildi.

3.1. Bakterilerin Tanımlanması

Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen klinik örnekler rutin olarak % 5 koyun kanlı agar (bioMérieux, Fransa) ve EMB (bioMérieux, Fransa) agara ekildi. Ekim yapılan petri plakları 35°C'de, 20-22 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra üreyen koloniler değerlendirildi. Üreyen kolonilerden *Enterobacteriaceae* ailesi bakterilerinin tür düzeyinde tanımlanması için Vitek MS (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi ile çalışıldı.

3.2. Bakterilerin Antimikrobiyal Direncinin Belirlenmesi

Çalışmaya dahil edilen suşların fosfomisin direnci ilk olarak Vitek 2 Compact (bioMérieux, Fransa) sistemi ile belirlendi. Ardından disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal direnç durumu doğrulandı.

3.2.1. Vitek 2 Compact (bioMérieux, Fransa) Otomatize Sistemi

Enterobacteriaceae izolatlarının antibiyotik duyarlılık testleri AST N325 kartları kullanarak üretici firma önerileri doğrultusunda Vitek 2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi ile çalışıldı.

İzolatlar %5 koyun kanlı agarda üredikten sonra 0,5 McFarland standart bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlandı, üretici firma önerileri doğrultusunda kartlar ve süspansiyonlar cihaza yerleştirildi. Her kart liyofilize olarak antimikrobiyallerin farklı konsantrasyonlarını ve besiyeri olarak da Mueller-Hinton buyyon (MHB) içermekte ve AST N325 kartları mikrodilüsyon tekniğinin kısaltılmış ve küçültülmüş bir şekliyle dilüsyon yaparak MİK değerini belirlemektedir. Tüm kartlar; 35,5 ± 1°C'de cihazın inkübatöründe inkübe edildi. Her kart 15 dakikada bir cihaz tarafından karusel denen inkübatöre alınıp ve reaksiyonların okunması için optik sisteme transfer edildi. Tüm inkübasyon periyodu boyunca 15 dakikada bir cihaz tarafından bilgiler toplandı. Tüm okunan değerler kaydedilerek, en geç 18 saat içinde sonuç alındı.

Son olarak da, antibiyogram kartlarında saptanan fosfomisin sonuçları disk difüzyon yöntemi ile doğrulandı.

3.2.2. Disk Difüzyon Yöntemi

Bakterilerin fosfomisine karşı duyarlılığı Kirby – Bauer disk difüzyon yöntemi ile EUCAST önerileri doğrultusunda MHA kullanılarak yapıldı. Steril, 15 cm çaplı petri plaklarına 4 mm kalınlığında besiyeri olacak şekilde MHA döküldü ve kullanılmaya kadar buzdolabında +4°C’de saklandı.

Kültür plaklarında saf koloni halinde üremiş olan bakteri kolonilerinden steril öze ile bir miktar alınarak steril serum fizyolojik içerisinde 0,5 McFarland bulanıklık sağlanacak şekilde süspansiyon edildi. Bu süspansiyondan steril eküvyon ile MHA besiyeri üzerine ekim yapıldı. Plakların kurumasından sonra fosfomisin 200 µg (Oxoid, İngiltere) antibiyotik diski petri plağının ortasına gelecek şekilde yerleştirildi. Petri plakları 37°C’de 18-24 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra inhibisyon zon çapları ölçüldü. Elde edilen sonuçlar, Tablo 8’de verilen *E. coli* izolatları için EUCAST tarafından önerilen zon çaplarına göre yorumlandı.

Tablo 8. *E. coli* izolatlarında fosfomisin için önerilen disk difüzyon zon çapları (EUCAST, 2018)

| Antibiyotik | Duyarlı (S) | Dirençli (R) |
|---------------------|-------------|--------------|
| Fosfomisin (200 µg) | ≥ 24 mm | < 24 mm |

3.3. Moleküler Yöntemler

3.3.1. *Enterobacteriaceae* İzolatlarından DNA Ekstraksiyonu

Enterobacteriaceae izolatlarından kaynatma yoluyla DNA ekstraksiyonu yapıldı. DNA ekstraksiyonu için ilk olarak MHA besiyerine pasajlanan bakteriler, 35°C’de 20-22 saat inkübe edildi. Üreyen bakterilerden bir öze dolusu alınıp, 500 µl steril distile su içeren mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı. Homojenizasyon için vorteks işlemi yapıldı ve homojen bir süspansiyon elde edildikten sonra, mikrosantrifüj tüpleri 15 dk süresince 100°C’ye ayarlanmış olan kuru bloğa yerleştirildi. Süre sonunda mikrosantrifüj tüpleri soğutmalı mikrosantrifüj cihazına yerleştirilerek 15000xg ve 4°C sıcaklıkta 20 dakika boyunca santrifüj işlemine tabi tutuldu. Santrifüj işleminden sonra supernatant kısmı PZR işleminde kullanılacak template DNA olarak steril DNase ve RNase

içermeyen mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı. Elde edilen DNA'lar kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı.

3.3.2. *fosA3* ve *fosC2* Genlerinin Standart PZR Yöntemi ile Araştırılması

fosA3 ve *fosC2* gen bölgeleri standart PZR yöntemi ile test edildi. Kullanılan primerler literatür taraması sonrası belirlendi.

Kullanılan Primerler

Çalışmada *fosA3* için Ho ve ark., (2013)'nın, *fosC2* için ise Hou ve ark., (2012) tanımladığı primerler kullanıldı. Kullanılan primerler Tablo 9'da sunuldu.

Tablo 9. Çalışmada kullanılan primer çiftleri (Hou ve ark., 2012; Ho ve ark., 2013)

| Gen | Primer adı | Primer dizisi | Boyut (bp) |
|----------------------------------|-------------------|------------------------|------------|
| <i>fosA3</i> (Ho ve ark., 2013) | <i>fosA3-F</i> | CCTGGCATT TTTATCAGCAGT | 234 bp |
| | <i>fosA3-R</i> | CGGTTATCTTTCCATACCTCAG | |
| <i>fosC2</i> (Hou ve ark., 2012) | <i>fosC2-F125</i> | TGGAGGCTACTTGGATTTG | 217 bp |
| | <i>fosC2-R341</i> | AGGCTACCGCTATGGATTT | |

fosA3 ve *fosC2* Genlerinin Standart PZR Yöntemi ile Amplifikasyonu

fosA3 geninin belirlenebilmesi için *fosA3-F* ve *fosA3-R* primerleri, *fosC2* geninin belirlenebilmesi için de *fosC2-F125* ve *fosC2-R341* primerleri kullanılarak standart PZR yöntemi ile amplifikasyon programı uygulandı. PZR işleminde kullanılan reaksiyon karışımı Tablo 10'da, amplifikasyon programları da Tablo 11'de belirtildi.

DNA Elektroforezi

PZR ürünü DNA'ların incelenmesi ve boyutlarının belirlenmesi için konsantrasyonu %2 olacak şekilde 1X Tris Borik asit EDTA (TBE) tamponu ile jel hazırlandı. Mikrodalga fırında eritilen agaroz, yatay elektroforez jel kabına döküldü ve soğumaya bırakıldı. Agaroz jel kuyucuklarına 8 µl amplifikasyon ürünü, 2 µl 6X yükleme tamponu ile karıştırılarak uygulandı. 60 dakika boyunca 120 V elektrik akımı altında moleküler boyutlarına göre DNA bantları ayrıştırıldı. Jel 0,5 µg/ml etidyum bromid içeren distile suda 20 dakika boyunca boyandı. Elektroforez işlemini takiben örneklere ait DNA bantları GeneRuler 100 bp DNA Ladder Plus markerları ile karşılaştırılarak görüntüleme cihazında incelendi.

Tablo 10. *fosA3* ve *fosC2* genleri için PZR reaksiyon karışımı

| Malzeme | Miktar (μ) |
|---------------------------------|------------------|
| 10X PZR tampon | 2,5 |
| 25 mM MgCl ₂ | 1,5 |
| dNTP karışımı (10 mM) | 0,5 |
| Taq DNA polimeraz (5U/ μ l) | 0,5 |
| Primer - F (10 pmol) | 0,5 |
| Primer - R (10pmol) | 0,5 |
| Kalıp DNA | 2 |
| Saf su | 17 |
| Toplam | 25 |

Tablo 11. *fosA3* ve *fosC2* genleri için PZR amplifikasyon programı.

| Aşama | <i>fosA3</i> | | | <i>fosC2</i> | | |
|-------------------------|---------------|---------------|--------------|---------------|---------------|--------------|
| | Sıcaklık (°C) | Süre (dakika) | Döngü Sayısı | Sıcaklık (°C) | Süre (dakika) | Döngü Sayısı |
| Ön denatürasyon | 95 | 5 | 1 | 95 | 5 | 1 |
| Hedef DNA denatürasyonu | 95 | 1 | 32 | 95 | 1 | 32 |
| Primer bağlanması | 61,7 | 1 | | 57 | 1 | |
| Primer uzaması | 72 | 1 | | 72 | 1 | |
| Son uzama | 72 | 10 | 1 | 72 | 10 | 1 |

4. BULGULAR

4.1. *Enterobacteriaceae* İzolatlarının Türlerine Göre Dağılımı ve İzole Edildikleri Klinik Servisler

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarına Ocak 2015 ve Aralık 2016 tarihleri arasında servis hastalarından gönderilen üriner sistem örnekleri incelendiğinde fosfomisin direncinin %22 olduğu belirlenmiştir. Çalışmaya dahil edilen fosfomisin dirençli 185 *Enterobacteriaceae* izolatından en sık izole edilen bakteriler; *Klebsiella* spp. (% 58,4), *Enterobacter* spp. (% 12,9) ve *Escherichia coli* (% 10,8) olmuştur. İzole edilen bakterilerin türlerine göre dağılımı Tablo 12’de verilmiştir.

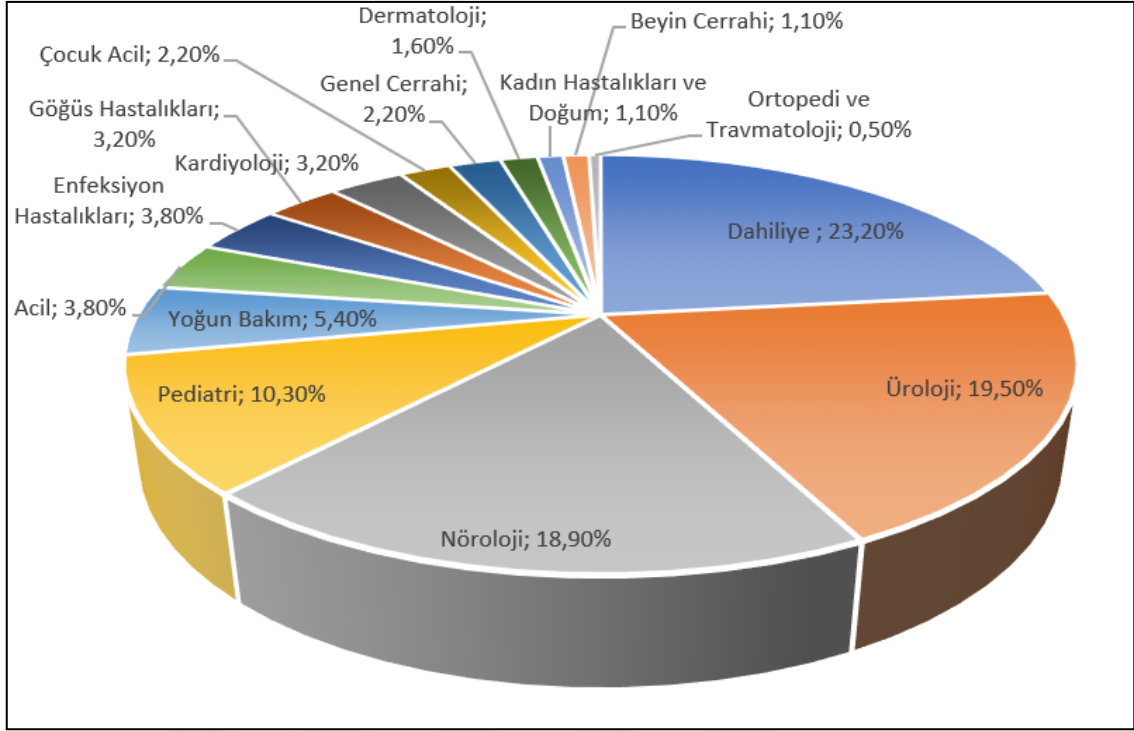
Tablo 12. İzole edilen bakterilerin türlerine göre dağılımı

| Bakteri Türü | Sayı (n) | Yüzde (%) |
|-----------------------------|----------|-----------|
| <i>Klebsiella</i> spp. | 108 | 58,4 |
| <i>Enterobacter</i> spp. | 24 | 12,9 |
| <i>Escherichia coli</i> | 20 | 10,8 |
| <i>Morganella morganii</i> | 16 | 8,6 |
| <i>Providencia rettgeri</i> | 6 | 3,24 |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 5 | 2,7 |

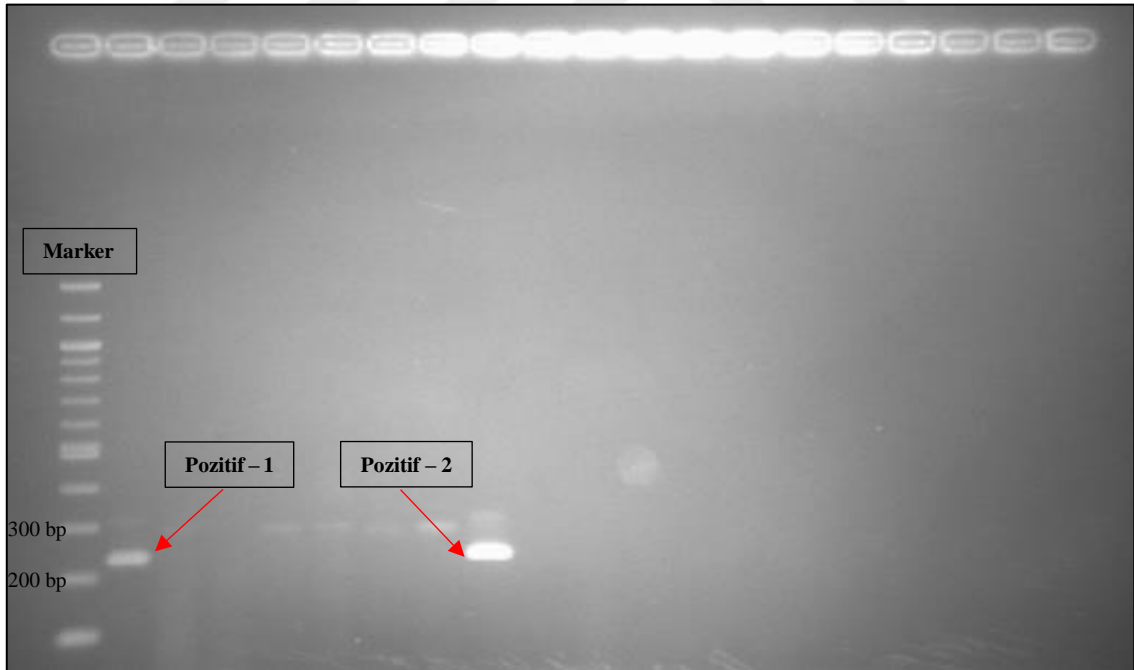
Çalışılan izolatlar en sık dahiliye (% 23,2), üroloji (% 19,5) ve nöroloji (% 18,9) servislerinden; en az ise ortopedi ve travmatoloji (% 0,5) servisinden gönderilen üriner sistem örneklerinden izole edilmiştir. Gönderilen örneklerin servislere göre dağılımı Şekil 3’te verilmiştir.

4.2. *fosA3* ve *fosC2* Genleri için PZR ve Elektroforez İşlemi Sonuçları

Yapılan PZR ve elektroforez işlemleri sonunda *fosA3* geni için 234 bp bölgesinde bant oluşturan 2 izolat şüpheli pozitif olarak belirlendi. Bu 2 izolatların PZR jel görüntüleri Şekil 4’te verilmiştir. *fosC2* geni için ise 217 bp bölgesinde bant oluşturan izolat bulunamadı. *fosA3* geni yönünden şüpheli pozitif olarak belirlenen suşların PZR ürünlerine sekans analizi uygulandı ve sekans analizi sonunda 2 izolatın da *fosA3* geni yönünden pozitif olduğu belirlendi.



Şekil 3. *Enterobacteriaceae* izolatlarının izole edildiği örneklerin servislere göre dağılımı



Şekil 4. *fosA3* geni yönünden pozitif izolatların PZR jel görüntüsü

5. TARTIŞMA

Enterobacteriaceae izolatlarının antibiyotik direncinde dünya çapında bildirilen ciddi bir artış söz konusudur (Falagas ve ark., 2016). Bu dirençli, GSBL üreten ve karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* (CRE) izolatları, mortalite oranlarının yüksek olduğu ciddi enfeksiyonlara neden olmakta ve tedaviyi zorlaştırmaktadır (Lee ve ark., 2012; Liu ve ark., 2012). Antibiyotik dirençlerindeki artış ve kullanılabilir yeni aktif bileşiklerin olmayışı, eski antibiyotikleri bir alternatif tedavi aracı olarak kullanmayı gerekli kılmıştır (Falagas ve ark., 2016). MDR *Enterobacteriaceae* izolatlarının neden olduğu, tedavi edilmesi zor üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde fosfomisin kullanımı, kanıtlanmış etkinliği nedeniyle tekrar gündeme gelmiştir (Veve ve ark., 2016; Zhanel ve ark., 2016). ÜSE, tüm dünyada en sık görülen ve önemli bir morbidite nedeni olan enfeksiyonlardır (Hooton, 2000; Gupta ve ark., 2011).

Üriner sistem örnekleriyle yapılan çalışmalar incelendiğinde; Ayata ve ark. (1998)'nin çocuklarda üriner sistem örneklerini inceledikleri çalışmada en sık izole edilen bakteriler *E. coli* (%55,8), *K. pneumoniae* (%16) ve *Enterobacter spp.* (%9,7); Kader ve ark. (2004)'nin yaptıkları çalışmada *E. coli* (%58) ve *K. pneumoniae* (%16,6); Çitil ve ark. (2006)'nin yaptıkları çalışmada en sık izole edilen bakteriler *E. coli* (%78) ve *K. pneumoniae* (%8,7); Gazi ve ark. (2007)'nin yaptıkları çalışmada en sık izole edilen bakteriler *E. coli* (%74,9), *K. pneumoniae* (%12); Temiz ve ark. (2008)'nin yaptıkları çalışmada en sık izole edilen bakteriler *E. coli* (%73) ve *K. pneumoniae* (%7); Demiraslan ve ark. (2010)'nin yaptıkları çalışmada en sık izole edilen bakteriler *E. coli* (%76,4) ve *K. pneumoniae* (%12,6); Salduz ve Yiğit (2010)'in yaptıkları çalışmada en sık izole edilen bakteriler *E. coli* (%84,8) ve *Proteus spp.* (%5,1); Bayram ve ark. (2011)'nin yaptıkları çalışmada en sık izole edilen bakteriler *E. coli* (%62,5) ve *K. pneumoniae* (%9); Linhares ve ark. (2013)'nin yaptıkları çalışmada en sık izole edilen bakteri *E. coli* (%64,5); Çelikbilek ve ark. (2014)'nin yaptıkları çalışmada en sık izole edilen bakteriler *E. coli* (%69,3) ve *Klebsiella spp.* (%12,1) olarak bulunmuştur. Ülkemizde ve farklı ülkelerde üriner sistem örnekleri ile yapılan çalışmaların çoğunda, izole edilen bakterilerin %50'sinden fazlası *E. coli* olarak raporlanmıştır. Bizim çalışmamızda ise; üriner sistem örneklerinden en çok izole edilen bakteriler *Klebsiella spp.* (%58,4), *Enterobacter spp.* (%12,9) ve *E. coli* (%10,8) olarak bulunmuştur. Bu

farklılığın, diğer çalışmalardan farklı olarak çalışmaya dahil ettiğimiz izolatların yalnızca fosfomisin dirençli izolatlar olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Üriner sistem örnekleri ile yapılan çalışmalardaki klinik yüzdeler incelendiğinde; Coşkun ve ark. (2015)'nin *E. coli* izolatları ile yaptıkları çalışmada örneklerin en sık üroloji (%23,6) ve çocuk hastalıkları (%23,2) polikliniklerinden; Özel ve Vardar-Ünlü (2015)'nin yine *E. coli* izolatları ile yaptıkları çalışmada örneklerin en sık üroloji (%38,2) ve nefroloji (%29,4) servislerinden izole edildiği raporlanmıştır. Bizim çalışmamızda ise; örneklerin en sık dahiliye (%23,2) ve üroloji (%19,5) servisinden gönderildiği tespit edilmiştir. Sonuçlardaki farklılıkların çalışmalara dahil edilen izolatlara ve nefroloji servisininin dahiliye servisi içerisinde kabul edilip edilmemesine bağlı olduğu düşünülmektedir.

MDR pek çok patojen için alternatif tedavi olan fosfomisin, uzun yıllardır kullanılmasına rağmen uzunca bir süre direnç insidansı sabit kalmıştır (Schito, 2003; Baylan, 2010). Ancak son yıllarda direnç artışının gözlenmesi, özellikle çoklu ilaç direnci görülen üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisi açısından önemlidir. Ülkemizde ve dünyada fosfomisin direncini belirlemeye yönelik çalışmalar incelendiğinde fosfomisin direncinin Mendoza ve ark. (1980)'nin MDR *Serratia marcescens* izolatları ile yaptıkları çalışmada %37; Arslan ve ark. (2005)'nin poliklinik hastalarından izole ettikleri *E. coli* izolatları ile yaptıkları çalışmada % 0,3; Mert (2006)'in *E. coli* izolatları ile yaptığı çalışmada % 7,8; Hoşbul ve ark. (2009)'nin poliklinik hastaları ve yatan hastalardan izole ettikleri *E. coli* izolatları ile yaptıkları çalışmada % 0,4; Wachino ve ark. (2010)'nin GSBL üreten *E. coli* izolatları ile yaptıkları çalışmada %3,6; Lee ve ark (2012)'nin GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatları ile yaptıkları çalışmada GSBL üreten *E. coli* izolatlarında %7,1 ve GSBL üreten *K. pneumoniae* izolatlarında %4,8; Arman ve ark. (2012)'nin *E. coli* izolatları ile yaptıkları çalışmada % 3,6; Tekin ve ark. (2012)'nin *E. coli* izolatları ile yaptıkları çalışmada % 2,3; İnci ve ark. (2013)'nin *E. coli* izolatları ile yaptıkları çalışmada % 6,5; Jiang ve ark. (2015)'nin KPC üreten *K. pneumoniae* ve GSBL üreten *K. pneumoniae* izolatları ile yaptıkları çalışmada KPC üreten izolatlarda %60,8, GSBL üreten izolatlarda %12,5; Li ve ark. (2015)'nin *E. coli* izolatları ile yaptıkları çalışmada %7,8; Xiang ve ark. (2015)'nin KPC üreten *K. pneumoniae* izolatları ile yaptıkları çalışmada %59,8; Sönmezer ve ark. (2016)'nin GSBL üreten *E. coli* ve GSBL üretmeyen *E. coli* izolatları ile yaptıkları çalışmada

sırasıyla % 8,6 ve %0; Yao ve ark. (2016)'nın *Enterobacteriaceae* izolatları ile yaptıkları çalışmada %11,1 ve Tseng ve ark. (2017)'nin karbapenem dirençli *K. pneumoniae* (CR-KP) izolatları ile yaptıkları çalışmada %36,4 oranında olduğu belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda ise; yatan hastalardan izole edilen *Enterobacteriaceae* izolatlarında fosfomisin direnci % 22,4 olarak belirlenmiştir.

Günümüzde halen ÜSE'nin en sık etkeni *E. coli* olarak bildirilmektedir (Kaygusuz ve ark., 2001). Bu nedenle özellikle ülkemizde, ÜSE etkenlerinin fosfomisin direncini belirlemeye yönelik çalışmalar, genellikle sadece *E. coli* izolatları dahil edilerek yapılmıştır. Bulduğumuz oranın ülkemizde yapılan çalışmalara göre daha yüksek çıkmış olması, çalışmaya dahil ettiğimiz izolatların yalnızca *E. coli* izolatları olmamasına ve poliklinik hastalarına nazaran daha patojen suşlarla enfekte olan yatan hastaların örneklerinin dahil edilmesine bağlı olabilir. Yine bulduğumuz oran dünyada, özellikle Doğu Asya'da yapılan çalışmalara göre düşüktür. Bunun nedeni de özellikle Doğu Asya'da yapılan çalışmaların, GSBL veya KPC üreten *Enterobacteriaceae* ya da CRE ve ya MDR *Enterobacteriaceae* izolatları gibi spesifik izolatlarla çalışılmasından kaynaklı olabilir.

Fosfomisin dirençli *Enterobacteriaceae* izolatlarıyla son 10 yılda yapılan çalışmalarda en sık izole edilen *fosA* alt tipi *fosA3* geni olarak raporlanmıştır (Yang ve ark., 2017). İlk olarak Wachino ve ark. (2010)'nın Japonya'da GSBL üreten klinik *E. coli* izolatlarıyla yaptıkları çalışmada % 1,04 oranında *fosA3* pozitifliği bildirilmiştir. Daha sonra fosfomisin dirençli izolatlar ile yapılan çalışmalar incelendiğinde Hou ve ark. (2012)'nin Çin'de hasta ve sağlıklı evcil hayvanlardan izole ettikleri *E. coli* izolatlarında % 9; Lee ve ark. (2012)'nin Güney Kore'de GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarıyla yaptıkları çalışmada GSBL üreten *E. coli* izolatlarında % 3,03 ve GSBL üreten *K. pneumoniae* izolatlarında %1,1; Ho ve ark. (2013)'nin Hong Kong'ta klinik örneklerden izole ettikleri *E. coli* izolatlarında %33,3; Jiang ve ark. (2015)'nin Çin'de KPC veya GSBL üreten *K. pneumoniae* izolatları ile yaptıkları çalışmada KPC üreten izolatlarda %33,8 ve GSBL üreten izolatlarda %8,8; Tseng ve ark. (2015)'nin Tayvan'da GSBL üreten *E. coli* izolatları ile yaptıkları çalışmada %2,75; Xiang ve ark. (2015)'nin Çin'de KPC üreten *K.pneumoniae* izolatlarıyla yaptıkları çalışmada %77 ve Mendes ve ark. (2016)'nin Portekiz'de *E. coli* izolatları ile yaptıkları çalışmada %2,3; Cao ve ark. (2017)'nin Çin'de üriner *E. coli* izolatları ile yaptıkları çalışmada %89,5; yine Tseng ve

ark. (2017)'nin Tayvan'da CR-KP izolatlarıyla yaptıkları çalışmada %71,4 oranında *fosA3* pozitifliği saptanmıştır. Bizim çalışmamızda ise fosfomisin dirençli izolatların %1,1'i *fosA3* yönünden pozitif olarak belirlenmiştir. Çalışmamızın sonucu Doğu Asya ülkeleri ile kıyaslandığında, bulduğumuz *fosA3* geni pozitifliği oranının düşük olduğu görülmüştür. Bunun nedeni Doğu Asya ülkelerinde çiftlik hayvanları ile evcil hayvanların *fosA3* geni taşıyan *Enterobacteriaceae* izolatları için rezervuar haline gelmiş olmasıdır. (Yao ve ark., 2016). Doğu Asya ülkelerindeki beslenme alışkanlıkları ve sokaklarda satılan et ürünleri bu ülkelerde *fosA3* genini taşıyan plazmidlerin evcil hayvanlar ve insanlar arasındaki iletimini kolaylaştırmış ve direnç yayılımını hızlandırmış olabilir.

Enterobacteriaceae izolatlarında plazmid aracılı fosfomisin direncinden sorumlu olabileceği düşünülen bir diğer gen *fosC2* genidir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde *fosC2* pozitifliğinin Wachino ve ark. (2010)'nın GSBL üreten *E. coli* izolatları ile yaptıkları çalışmada %14,3; Wang ve ark. (2015)'nin 1 adet MDR *E. cloacae* izolatı ile yaptıkları çalışmada %100 olarak bulunmuştur. Bi ve ark. (2017)'nin GSBL üreten *E. coli* izolatlarıyla ve White ve ark. (2017)'nin karbapenem dirençli *Enterobacter spp.* izolatları ile yaptıkları çalışmalarda *fosC2* geni yönünden pozitif izolat saptanamamıştır. Bizim çalışmamızda da Bi ve ark. (2017) ve White ve ark. (2017)'nin yaptıkları çalışmalarla benzer şekilde *fosC2* geni yönünden pozitif izolat bulunamamıştır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- Çalışmaya Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Ocak 2015 - Aralık 2016 tarihleri arasında gönderilen üriner sistem örneklerinden izole edilen 185 fosfomisin dirençli *Enterobacteriaceae* izolatu dahil edilmiştir.
- *Enterobacteriaceae* izolatlarının içinde en sık izole edilen türler; *Klebsiella spp.* (%58,4), *Enterobacter spp.* (%12,9) ve *E. coli* (%10,8) olarak bulunmuştur.
- Çalışmaya dahil edilen *Enterobacteriaceae* izolatlarının en çok dahiliye servisinden (% 23,2); en az ise ortopedi ve travmatoloji (% 0,5) servisinden gönderilen örneklerden izole edildiği belirlenmiştir.
- *Enterobacteriaceae* izolatlarında PZR yöntemiyle *fosA3* ve *fosC2* genleri araştırılmıştır. İzolatların %1,1'inde *fosA3* geni pozitif olarak bulunurken, hiçbirinde *fosC2* geni pozitifliği saptanamamıştır.
- Yaptığımız çalışma ülkemizde *fosA3* ve *fosC2* genlerinin araştırıldığı ilk çalışmadır.
- Çalışmamız, ülkemizde *fosA3* geni yönünden pozitif izolatların saptandığı ilk çalışmadır.
- Çalışmamız bölgesel olarak yapıldığı için epidemiyolojik öneme sahiptir.

KAYNAKLAR

- Afşar I, Gönül B, Şener AG, Türker M. In-vitro susceptibility of clinical isolates of *Escherichia coli* to fosfomycin trometamol and other antibiotics. *Ankem Derg* 2005;19:77-9.
- Alos JI, Serrano MG, Gomez-Garces JL, Perianes J. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* from community-acquired urinary tract infections in relation to demographic and clinical data. *Clin Microbiol Infect* 2005;11(3):199-203.
- 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.
- Ayata A, Yorgancıgil B, Aydemir M, Öktem F, Çetin H, Örmeci AR. Çocukluk çağı idrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen bakteriler ve antibiyotik duyarlılığı. *Turk J Infect* 1998;12(1):9-11.
- Baron S. *Medical Microbiology*. 4th Edition, Galveston, University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996.
- Barry AL, Pfaller MA, Fuchs PC, Tenover FC, Reller LB, Allen SD, Hardy DJ, Gerlach EH. Interpretive criteria and quality control parameters for determining bacterial susceptibility to fosfomycin tromethamine. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993;12:352-6.
- Baylan O. Fosfomisin: Dünü, bugünü ve geleceği. *Mikrobiyol Bul* 2010;44(2):311-21.
- Bayram Y, Eren H, Berktaş M. İdrar örneklerinden izole edilen bakteriyel patojenlerin dağılımı ve GSBL pozitif ve negatif *Escherichia coli* suşlarının fosfomisin ve diğer antimikrobiyallere duyarlılık paterni. *Ankem Derg* 2011;25(4):232-236.
- Beharry Z, Palzkill T. Functional analysis of active site residues of the fosfomycin resistance enzyme *fosA* from *Pseudomonas aeruginosa*. *J Biol Chem* 2005;280:17786-91.
- Berkiten R. *Fakültatif Anaerob Gram-negatif Çomaklar*. Bozkaya E. Editör. *Tıbbi Mikrobiyoloji – 2*. 1. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri. 2005: 51-98.
- Bi W, Li B, Song J, Hong Y, Zhang X, Liu H, Cao J. Antimicrobial susceptibility and mechanisms of fosfomycin resistance in extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* strains from urinary tract infections in Wenzhou, China. *Int J Antimicrob Agents* 2017;50(1):29-34.
- Bilgehan H. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. 1. Baskı, Ankara, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi. 2004:425-454.
- Bilgehan H. *Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi (Uygulama Konuları ile)*. 12. Baskı, İzmir, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, 2008:37-38.
- Cao M, Bernat BA, Wang Z, Armstrong RN, Helmann JD. FosB, a cysteine-dependent fosfomycin resistance protein under the control of σ^W , an extracytoplasmic-function σ factor in *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol* 2001;183:2380-2383.

- Cao XL, Shen H, Xu YY, Xu XJ, Zhang ZF, Cheng L, Chen JH, Arakawa Y. High prevalence of fosfomycin resistance gene fosA3 in blaCTX-M-harboring Escherichia coli from urine in a Chinese tertiary hospital during 2010–2014. *Epidemiol Infect* 2017;145:818–824.
- Castaneda-Garcia A, Blazquez J, Rodriguez-Rojas A. Molecular mechanisms and clinical impact of acquired and intrinsic fosfomycin resistance. *Antibiotics (Basel)* 2013;2:217-36.
- Cengiz T. Tıp ve Diş Hekimliğinde Özel Mikrobiyoloji. 1. Baskı, Ankara, Güneş Kitabevi. 2004;446-451.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 27th edition. Pennsylvania. CLSI Document M100-S27 2017;32-39.
- Cordaro JC, Melton T, Stratis JP, Atagun M, Gladding C, Hartman PE, et al. Fosfomycin resistance selection method for internal and extended deletions of phosphoenolpyruvate - sugar phosphotransferase genes of Salmonella typhimurium. *J Bacteriol* 1976;128:785-93.
- Couce A, Briales A, Rodriguez-Rojas A, Costas C, Pascual A, Blazquez J. Genomewide overexpression screen for fosfomycin resistance in Escherichia coli: MurA confers clinical resistance at low fitness cost. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:2767-9.
- Çelikkilek N, Gözalan A, Özdem B, Kırca F, Açıkgöz ZC. Ayaktan başvuran hastaların idrar kültürlerinde üretilen Enterobacteriaceae izolatlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi: yedi yıllık izlem sonuçları. *Mikrobiyol Bul* 2014;49(2):259-265.
- Çiğil BE, Çöplü N, Gözalan A, Öncül Ö, Karaca Y, Esen B. Üriner sistem infeksiyonu etkeni olan Enterobacteriaceae türlerinin iki yıllık antibiyotik direnç oranları değerlendirilmesi. *Kocatepe Med J* 2006;6:31-35.
- Davin-Regli A, Pages JM. Enterobacter aerogenes and Enterobacter cloacae; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Front Microbiol* 2015;6:392.
- Demiraslan H, Demir NA, Kölgelir S. Adıyaman’da Enterobacteriaceae ailesindeki genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) oranı ve antibiyotik duyarlılıkları. *Flora* 2010;15(3):112-117.
- Donnenberg MS. Enterobacteriaceae. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, editors. *Principles and Practice Infectious Diseases*. 6th ed., Philadelphia, Churchill Livingstone Inc. 2005;2567-2586.
- Donnenberg MS. Enterobacteriaceae. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, editors. *Principles and Practice Infectious Diseases*. 7th ed., Philadelphia, Churchill Livingstone Inc. 2010;2815-2834.
- El Zoeiby A, Sanschagrın F, Levesque RC. Structure and function of the Mur enzymes: development of novel inhibitors. *Mol Microbiol* 2003;47:1-12.
- Ertuğrul MB, Atla-Güleç L, Akal D, Atahan ÇA, Özsüt H, Eraksoy H, Çalangu S. Üropatojen E.coli suşlarının tedavide sık kullanılan antibiyotiklere duyarlılıkları. *Klimik Derg* 2004;17(2):132-6.

- Etienne J, Gerbaud G, Courvalin P, Fleurette J. Plasmid-mediated resistance to fosfomycin in *Staphylococcus epidermidis*. *FEMS Microbiol Lett* 1989;61:133–137.
- Etienne J, Gerbaud G, Fleurette J, Courvalin P. Characterization of staphylococcal plasmids hybridizing with the fosfomycin resistance gene *fosB*. *FEMS Microbiol Lett* 1991;84:119–122.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Critical breakpoints–bacteria (v 8.1). *EUCAST* 2018;5-9.
- Falagas ME, Kopterides P. Old antibiotics for infections in critically ill patients. *Curr Opin Crit Care* 2007;13:592-7.
- Falagas ME, Giannopoulou KP, Kokolakis GN, Rafailidis PI. Fosfomycin: use beyond urinary tract and gastrointestinal infections. *Clin Infect Dis* 2008;46:1069-77.
- Falagas ME, Vouloumanou EK, Togiag AG, Karadima M, Kapaskelis AM, Rafailidis PI, Athanasiou S. Fosfomycin versus other antibiotics for the treatment of cystitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Antimicrob Chemother* 2010;65(9):1862-1877.
- Falagas ME, Vouloumanou EK, Samonis G, Vardakas KZ. Fosfomycin. *Clin Microbiol Rev* 2016;29:321–47.
- Farmer JJ, Farmer MK, Holmes B. The Enterobacteriaceae: General Characteristics. In: Borriello SP, Murray RP, Funke G, editors. *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Bacteriology*, 10th ed., Washington DC, ASM Press. 2005;1317-1360.
- Farmer JJ, Boatwright KD, Janda JM. Enterobacteriaceae: Introduction and Identification. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen HJ Landry ML, Pfaller MA, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed., Washington DC, ASM Press. 2009:649–669.
- Fillgrove KL, Pakhomova S, Newcomer ME, Armstrong RN. Mechanistic diversity of fosfomycin resistance in pathogenic microorganisms. *J Am Chem Soc* 2003;125:15730-1.
- Garau J. Other antimicrobials of interest in the era of extended-spectrum β -lactamases: fosfomycin, nitrofurantoin and tigecycline. *Clin Microbiol Infect* 2008;14(1):198–202.
- Gazi H, Sürücüoğlu S, Kurutepe S. İdrar kültürlerinden izole edilen Gram negatif bakterilerde antibiyotiklere direnç. *Ankem Derg* 2007;21(1):19-22.
- Göker G, Kaya I, Aydın D, Gürler N. Investigation of *Escherichia coli*, *Klebsiella* and *Enterococcus* spp. susceptibilities to fosfomycine tromethamole in urinary tract infections. *Ankem Derg* 2007;21:219-22.
- Greenwood D. Fosfomycin and fosmidomycin. In: Finch RG, Greenwood D, Norrby SR, Whitley RJ editors. *Antibiotic and Chemotherapy*. 8th ed., Toronto, Churchill Livingstone. 2003;294-300.
- Grimont F, Grimont PAD. *Prokaryotes*. 6th Edition, New York, Springer. 2006;5-245.

- Gupta K, Hooton TM, Naber KG, Wullt B, Colgan R, Miller LG, et al. International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women: a 2010 update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. *Clin Infect Dis* 2011;52(5):103-20.
- Gür D, Hasçelik G, Aydın N. Antimicrobial resistance in Gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 surveillance study of 2007. *J Chemother* 2009;21(4):383-389.
- Ho PL, Chan J, Lo WU, Lai EL, Cheung YY, Lau TC, Chow KH. Prevalence and molecular epidemiology of plasmid-mediated fosfomycin resistance genes among blood and urinary *Escherichia coli* isolates. *J Med Microbiol* 2013;62:1707–1713.
- Hooton TM. Pathogenesis of urinary tract infections: an update. *J Antimicrob Chemother* 2000;46(1):1-7.
- Horii T, Kimura T, Sato K, Shibayama K, Ohta M. Emergence of fosfomycin resistant isolates of Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* O26. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:789–93.
- Hoşbul T, Özyurt M, Baylan O, Bektöre B, Ardiç N, Ceylan S, Erdemoğlu A, Haznedaroğlu T. In vitro activity of fosfomycin in the treatment of *Escherichia coli* related uncomplicated urinary tract infections. *Mikrobiyol Bul* 2009;43:645-9.
- Hou J, Yang X, Zeng Z, Lv L, Yang T, Lin D, et al. Detection of the plasmid- encoded fosfomycin resistance gene *fosA3* in *Escherichia coli* of food-animal origin. *J Antimicrob Chemother* 2013;68:766–70.
- Jiang Y, Shen P, Wei Z, Liu L, He F, Shi K, Wang Y, Wang H, Yu Y. Dissemination of a clone carrying a *fosA3*-harbouring plasmid mediates high fosfomycin resistance rate of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in China. *Int J Antimicrob Agents* 2015;45:66–70.
- Kader AA, Kumar A, Dass SM. Antimicrobial resistance patterns of gram-negative bacteria isolated from urine cultures at a general hospital. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2004;15:135-9.
- Kaygusuz S, Apan TZ, Kılıç D. Toplum kökenli üriner sistem infeksiyonu etkeni Gram negatif bakterilerde çeşitli antibiyotiklere direnç. *Ankem Derg* 2001;15(4):753-9.
- Kim DH, Lees WJ, Kempell KE, Lane WS, Duncan K, Walsh CT. Characterization of a Cys115 to ASP substitution in the *Escherichia coli* cell wall biosynthetic enzyme UDP-GLCNAC enolpyruvyl transferase (MurA) that confers resistance to inactivation by the antibiotic fosfomycin. *Biochemistry* 1996;35:4923-8.
- Kim SY, Ju KS, Metcalf WW, Evans BS, Kuzuyama T, van der Donk WA. Different biosynthetic pathways to fosfomycin in *Pseudomonas syringae* and *Streptomyces* species. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:4175–4183.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC Jr. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th ed., Philadelphia, Lippincott. 1997;171-252.

- Köken G, Aşık G, Çiftçi IH, Çetinkaya Z, Aktepe OC, Yılmaz M. Efficiency of fosfomycin trometamol on *Escherichia coli* strains from community acquired urinary tract infections. *Ankem Derg* 2008;22:23-7.
- Kuzuyama T, Kobayashi S, O'Hara K, Hidaka T, Seto H. Fosfomycin monophosphate and fosfomycin diphosphate, two inactivated fosfomycin derivatives formed by gene products of *fomA* and *fomB* from a fosfomycin producing organism *Streptomyces wedmorensis*. *J Antibiot* 1996;49:502–504.
- Kumar S, Parvathi A, Hernandez RL, Cadle KM, Varela MF. Identification of a novel UDP-N-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase (*MurA*) from *Vibrio fischeri* that confers high fosfomycin resistance in *Escherichia coli*. *Arch Microbiol* 2009;191:425-9.
- Lee JC, Lee NY, Lee HC, Huang WH, Tsui KC, Chang CM, et al. Clinical characteristics of urosepsis caused by extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* or *Klebsiella pneumoniae* and their emergence in the community. *J Microbiol Immunol Infect* 2012;45:127-33.
- Li G, Zhang Y, Bi D, Shen P, Ai F, Liu H, Tian Y, Ma Y, Wang B, Rajakumar K, Ou HY, Jiang X. First report of a clinical, multidrug-resistant Enterobacteriaceae isolate coharboring fosfomycin resistance gene *fosA3* and carbapenemase gene *blaKPC-2* on the same transposon, Tn1721. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59:338-43.
- Liu SW, Chang HJ, Chia JH, Kuo AJ, Wu TL, Lee MH. Outcomes and characteristics of ertapenem-nonsusceptible *Klebsiella pneumoniae* bacteremia at a university hospital in northern Taiwan: a matched case-control study. *J Microbiol Immunol Infect* 2012;45:113-9.
- Linhares I, Raposo T, Rodrigues A, Almeida A. Frequency and antimicrobial resistance patterns of bacteria implicated in community urinary tract infections: a ten-year surveillance study (2000–2009). *BMC Infect Dis* 2013;13:19.
- Mendes AC, Rodrigues C, Pires J, Amorim J, Ramos MH, Novais A, Peixe L. Importation of fosfomycin resistance *fosA3* gene to Europe. *Emerg Infect Dis* 2016;22:346-8.
- Mendoza C, Garcia JM, Llaneza J, Mendez FJ, Hardisson C, Ortiz JM. Plasmid-determined resistance to fosfomycin in *Serratia marcescens*. *Antimicrob Agents Chemother* 1980;18:215-9.
- Mert D. Nonkomplike üriner enfeksiyonlu hastalarda fosfomisin trometamol ve siprofloksasinin klinik etkinliğinin karşılaştırılması. T.C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Uzmanlık Tezi, 2006.
- Minassian MA, Lewis DA, Chattopadhyay D, Bovill B, Duckworth GJ, Williams JD. A comparison between single-dose fosfomycin trometamol (Monuril) and a 5-day course of trimethoprim in the treatment of uncomplicated lower urinary tract infection in women. *Int J Antimicrob Agents* 1998;10:39-47.

- Navas J, Leon J, Arroyo M, Garcia Lobo JM. Nucleotide sequence and intracellular location of the product of the fosfomycin resistance gene from transposon Tn2921. *Antimicrob Agents Chemother* 1990;34:2016-8.
- Neuman M. Recent developments in the field of phosphonic acid antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 1984;14:309-11.
- Patel SS, Balfour JA, Bryson HM. Fosfomycin tromethamine. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy as a single-dose oral treatment for acute uncomplicated lower urinary tract infections. *Drugs* 1997;53:637-56.
- Reeves DS. Treatment of bacteriuria in pregnancy with single dose fosfomycin trometamol: a review. *Infection* 1992;20(4):313-6.
- Rigsby RE, Fillgrove KL, Beihoffer LA, Armstrong RN. Fosfomycin resistance proteins: A nexus of glutathione transferases and epoxide hydrolases in a metalloenzyme superfamily. In: Sies H, Packer L, editors. *Gluthione Transferases and Gamma-Glutamyl Transpeptidases*. San Diego, Elsevier Academic Press Inc. 2005;367-79.
- Salduz ZIY; Yigit O. İdrar yolu enfeksiyonlu çocuklardan izole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları. *J Pediat Infect* 2010;4(4):138-143.
- Sato N, Kawamura K, Nakane K, Wachino J, Arakawa Y. First detection of fosfomycin resistance gene fosA3 in CTX-M-producing *Escherichia coli* isolates from healthy individuals in Japan. *Microb Drug Resist* 2013;19:477-82.
- Schito GC. Why fosfomycin trometamol as first line therapy for uncomplicated UTI? *Int J Antimicrob Agents* 2003;22 (2):79-83.
- Silver LL. Fosfomycin: Mechanism and Resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2017;7:a025262.
- Sönmezer MÇ, Tülek N, Köksal E, Temoçin F, Ertem G, Erdinç FŞ. Toplum kökenli üriner sistem enfeksiyonlarında etken olan genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Escherichia coli* izolatlarında fosfomisin trometamolün in vitro etkinliği. *Flora* 2016;21(4):153-158.
- Suarez JE, Mendoza MC. Plasmid-encoded fosfomycin resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:791-795.
- Takahata S, Ida T, Hiraishi T, Sakakibara S, Maebashi K, Terada S, et al. Molecular mechanisms of fosfomycin resistance in clinical isolates of *Escherichia coli*. *Int J Antimicrob Agents* 2010;35:333-7.
- Tekin A, Deveci Ö, Dal T, Tekin R, Özekinci T, Dayan S. Üropatojen *Escherichia coli* izolatlarına fosfomisin ve bazı antibiyotiklerin in vitro etkinliği. *Ankem Derg* 2012;26(2):61-68.
- Temiz H, Akkoç H, Gül K. Laboratuvarımızda idrar kültürlerinden izole edilen gram negatif bakterilerde antibiyotiklere direnç. *Dicle Med J* 2008;35(4): 234-9.
- Tseng SP, Wang SF, Ma L, Wang TY, Yang TY, Siu LK, et al. The plasmid-mediated fosfomycin resistance determinants and synergy of fosfomycin and meropenem in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect* 2017;50(5):653-61.

- Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1. Baskı, Ankara, Güneş Tıp Kitabevi. 1999; 471-517.
- Wachino J, Yamane K, Suzuki S, Kimura K, Arakawa Y. Prevalence of fosfomycin resistance among CTX-M-producing *Escherichia coli* clinical isolates in Japan and identification of novel plasmid-mediated fosfomycin-modifying enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:3061–3064.
- Walker KE, Horneman AJ, Mahon CR, Manuselis G. Enterobacteriaceae. In: Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G, editors. *Textbook of Diagnostic Microbiology*. 3rd ed., Missouri, Saunders. 2007; 502-541.
- Wang Y, Lo WU, Lai EL, Chow KH, Ho PL. Complete sequence of the multidrug-resistant IncL/M plasmid pIMP-HB623 cocarrying blaIMP-34 and fosC2 in an *Enterobacter cloacae* strain associated with medical travel to China. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59:5854-6.
- Warren JW, Abrutyn E, Hebel JR, Johnson JR, Schaeffer AJ, Stamm WE. Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. *Infectious Diseases Society of America (IDSA). Clin Infect Dis* 1999;29:745-58.
- White BP, Stover KR, Barber KE, Galloway RC, Sullivan DC, King ST. Mechanisms of fosfomycin resistance in carbapenem-resistant *Enterobacter* sp. *Int J Antimicrob Agents* 2017;50:690–692.
- Willke TA, Söyletir G, Doğanay M. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. 2. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri. 2002;1555-1556.
- Winn W Jr, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th ed., Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins. 2006;213.
- Wu Q, Zhang Y, Han L, Sun J, Ni Y. Plasmid-mediated 16S rRNA methylases in aminoglycoside-resistant Enterobacteriaceae isolates in Shanghai, China. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53(1):271-272.
- Xiang DR, Li JJ, Sheng ZK, Yu HY, Deng M, Bi S, Hu FS, Chen W, Xue XW, Zhou ZB, Doi Y, Sheng JF, Li LJ. Complete sequence of a novel IncR-F33:A-B-plasmid, pKP1034, harboring fosA3, blaKPC-2, blaCTX-M-65, blaSHV-12, and rmtB from an epidemic *Klebsiella pneumoniae* sequence type 11 strain in China. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;60:1343-8.
- Venkates PS, Wu HC. Isolation and characterization of a fosfomycin resistant mutant of *Escherichia coli* K-12. *J Bacteriol* 1972;110:935- 418.
- Veve MP, Wagner JL, Kenney RM, Grunwald JL, Davis SL. Comparison of fosfomycin to ertapenem for outpatient or step-down therapy of extended-spectrum β -lactamase urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents* 2016;48:56–60.
- Yang TY, Lu PL, T SP. Update on fosfomycin-modified genes in Enterobacteriaceae. *J Microbiol Immunol Infect* 2017;1-13.
- Yao JDC, Moellering RC Jr. Antibacterial agents. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds), *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed., Washington DC, ASM Press. 2007; 1077-113.

- Yao H, Dongfang W, Lei L, Shen Z, Wang Y, Liao K. The detection of fosfomycin resistance genes in Enterobacteriaceae from pets and their owners. *Vet Microbiol* 2016;193:67–71
- Yaylı G, Aksoy S. Hastane infeksiyonlarından izole edilen *Acinetobacter* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. *Turk Mikrobiyol Cem Derg* 2003;33:61-63.
- Zilhao R, Courvalin P. Nucleotide sequence of the fosB gene conferring fosfomycin resistance in *Staphylococcus epidermidis*. *FEMS Microbiol Lett* 1990;68:267–272.
- Zhanel GG, Walkty AJ, Karlowsky JA. Fosfomycin: a first-line oral therapy for acute uncomplicated cystitis. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2016;208:2693.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Kübra Hacıeminoğlu
Dođum Yeri : Aybastı / Ordu
Dođum Tarihi : 21.08.1991
Medeni Hali : Bekar
Bildiđi Yabancı Diller : İngilizce
Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl) : Ege Üniversitesi Fen Fakültesi
Biyokimya Bölümü 2014 – Mezun
Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü 2018 - Halen
E-posta : kubra.hacieminoglu@gmail.com