

# Ispitivanje učinkovitosti različitih shema doziranja fosfomicina u liječenju infekcija urinarnog trakta uzrokovanih sojevima E. coli i K. pneumoniae koje proizvode beta laktamaze proširenoga spektra

---

**Bielen, Luka**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2015**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:776225>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-23**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)





## Središnja medicinska knjižnica

**Bielen, Luka (2015) *Ispitivanje učinkovitosti različitih shema doziranja fosfomicina u liječenju infekcija urinarnog trakta uzrokovanih sojevima E. coli i K. pneumoniae koje proizvode beta laktamaze proširenoga spektra [Prospective controlled clinical trial of different fosfomycin dose regimens in the treatment of urinary tract infections caused by extended spectrum beta lactamase producing strains of E. coli and K. pneumoniae].* Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.**

<http://medlib.mef.hr/2189>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

**Luka Bielen**

**Ispitivanje učinkovitosti različitih shema  
doziranja fosfomicina u liječenju  
infekcija urinarnog trakta uzrokovanih  
sojevima E. coli i K. pneumoniae koje  
proizvode beta laktamaze proširenoga  
spektra**

**DISERTACIJA**



Zagreb, 2015.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Luka Bielen**

**Ispitivanje učinkovitosti različitih shema  
doziranja fosfomicina u liječenju  
infekcija urinarnog trakta uzrokovanih  
sojevima *E. coli* i *K. pneumoniae* koje  
proizvode beta laktamaze proširenoga  
spektra**

**DISERTACIJA**

**Zagreb, 2015.**

Ova disertacija je izrađena u Zavodu za kliničku farmakologiju i Kliničkom zavodu za kliničku i molekularnu mikrobiologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb.

Voditelj rada: doc. dr. sc. Robert Likić, internist

## **Posveta**

Ovu doktorsku disertaciju posvećujem svojoj supruzi Cvijeti bez čije podrške njezina izrada ne bi bila moguća.

## **Zahvala**

Iznimno hvala mojem mentoru doc. dr. sc. Robertu Likiću, koji mi je prvi ukazao na potencijal istraživanja fosfomicina u liječenju infekcija urinarnog trakta uzrokovanih bakterijskim sojevima koji proizvode beta laktamaze proširenog spektra, i koji mi je pomagao u svim poteškoćama na koje sam nailazio tijekom izrade ove doktorske disertacije.

Želim zahvaliti svojim suradnicima u Kliničkom zavodu za kliničku i molekularnu mikrobiologiju KBC-a Zagreb, Laboratoriju službe za mikrobiologiju Zavoda za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“, Laboratoriju službe za mikrobiologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo, Zavodu za kliničku mikrobiologiju Klinike za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“, Zavodu za kliničku mikrobiologiju i hospitalne infekcije Kliničke bolnice „Sveti Duh“, Medicinsko-biokemijskom laboratoriju Breyer, na pomoći u prikupljanju i testiranju osjetljivosti bakterijskih izolata koji proizvode beta laktamaze proširenog spektra.

Želim zahvaliti svojim kolegama iz Odjela za transplantirane bolesnike KBC-a Zagreb koji su mi pomogli u regrutaciji ispitanika za ovo kliničko ispitivanje.

I konačno, hvala mojoj sestri Ani koja mi je pomogla kad je posla bilo puno, a vremena malo.

# SADRŽAJ

1.	UVOD.....	1
1.1.	Definicije.....	1
1.2.	Povijest i klasifikacija beta laktamaza.....	3
1.3.	Kliničko značenje ESBL bakterijskih sojeva.....	7
1.4.	Epidemiologija infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL bakterijskim sojevima.....	8
1.5.	Smjernice za liječenje infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL sojevima.....	10
1.6.	Otkriće, struktura i farmakodinamika fosfomicina.....	11
1.7.	Sinergija fosfomicina s drugim antibioticima.....	14
1.8.	Farmakokinetika fosfomicina trometamola.....	16
1.9.	Farmaceutski oblici, doziranje i klinička primjena fosfomicina.....	19
1.10.	Nuspojave fosfomicina.....	27
1.11.	Rezistencija na fosfomicin.....	28
1.12.	Interakcije fosfomicina s drugim lijekovima.....	31
1.13.	Istraživanja <i>in vitro</i> osjetljivosti ESBL sojeva na fosfomicin.....	32
1.14.	Klinička istraživanja učinkovitosti fosfomicina u liječenju kompliciranih infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL sojevima.....	36
2.	HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA.....	40
3.	CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	41
4.	MATERIJALI, ISPITANICI, METODE I TIJEK ISTRAŽIVANJA.....	42
4.1.	Dokazivanje ESBL produkcije.....	42

4.2.	Prikupljanje sojeva za testiranje <i>in vitro</i> osjetljivosti na fosfomicin .....	43
4.3.	Testiranje <i>in vitro</i> osjetljivosti na fosfomicin .....	44
4.4.	Regrutacija ispitanika .....	45
4.5.	Uključivanje ispitanika u istraživanje .....	46
4.6.	Randomizacija .....	49
4.7.	Tijek ispitivanja .....	50
5.	REZULTATI .....	51
5.1.	<i>In vitro</i> osjetljivost ESBL sojeva na fosfomicin .....	51
5.2.	Karakteristike bolesnika .....	54
5.3.	Djelotvornost fosfomicina u liječenju infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL sojevima <i>E. coli</i> i <i>K. pneumoniae</i> .....	57
6.	RASPRAVA .....	59
6.1.	Analiza rezultata .....	59
6.2.	Farmakoekonomski aspekt istraživanja .....	65
6.3.	Buduća istraživanja .....	67
7.	ZAKLJUČAK .....	70
8.	SAŽETAK .....	72
9.	SUMMARY .....	73
10.	POPIS LITERATURE .....	74
11.	ŽIVOTOPIS .....	83
12.	PRILOZI .....	84

# POPIS OZNAKA I KRATICA

AATS - Američka radna skupina za dostupnost antimikrobnih lijekova (od engl. "Antimicrobial Availability Task Force")

AmpC – vrsta beta laktamaze

CFU – jedinice koje formiraju koloniju (od engl. "Colony-Forming Unit")

CLSI – Institut kliničkih i laboratorijskih standarda (od engl. "Clinical and Laboratory Standards Institute")

CTX-M – vrsta beta laktamaze proširenoga spektra (akronim CTX označava cefotaksim)

*E. coli* – *Escherichia coli*

ESBL – beta laktamaze proširenoga spektra (od engl. "Extended Spectrum Beta-Lactamase")

EUCAST – Europski odbor za testiranje osjetljivosti na antimikrobne lijekove (od engl. "The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing")

FDA – Američka administracija za hranu i lijekove (od engl. "Food and Drug Administration")

JIL – jedinica intenzivnog liječenja

*K. pneumoniae* – *Klebsiella pneumoniae*

MDRD – jednadžba za izračunavanje klirensa kreatinina (od engl. "Modification of Diet in Renal Disease")

MIK – minimalna inhibitorna koncentracija

MRSA – meticilin rezistentni *S. aureus*

NDM-1 – vrsta karbapenemaze (beta laktamaze) (od engl. "New Delhi Metallo-beta-lactamase-1")

OXA – vrsta beta laktamaze proširenoga spektra (akronim OXA označava oksacilin)

SHV – vrsta beta laktamaze proširenoga spektra (od engl. "sulfhydryl variable")

TEM – vrsta beta laktamaze (nazvana prema bolesnici koja se prezivala **Temoniera**)

VRE – vankomicin rezistentni enterokok



# 1. UVOD

## 1.1. Definicije

**Beta laktamaze proširenog spektra** (u daljnjem tekstu ESBL – od engl. “Extended spectrum beta – lactamase“) su enzimi koji dovode do rezistencije na većinu beta laktamskih antibiotika uključujući peniciline, cefalosporine i monobaktam aztreonam. Također, prema definiciji ESBL enzimi su osjetljivi na djelovanje inhibitora beta laktamaza poput klavulanske kiseline, a to je svojstvo koje se koristi i u laboratorijskoj detekciji ESBL sojeva (vidi odjeljak 5.1.). Bakterijski sojevi s ESBL fenotipom dovode do enzimski posredovane hidrolize beta laktamskog prstena navedenih antibiotika, čime dolazi do njihove inaktivacije.

**Nekomplicirana infekcija urinarnog trakta** odnosi se na infekciju strukturno i funkcionalno normalnog urinarnog trakta u premenopausalnih žena.

**Komplicirana infekcija urinarnog trakta** odnosi se na infekciju strukturno i/ili funkcionalno abnormalnog urinarnog trakta. Bilo da je lokalizirana u donjem (mokraćni mjehur) ili u gornjem urinarnom traktu (bubreg), udružena je sa stanjima, tzv. komplicirajućim faktorima, koji povećavaju rizik neuspjeha terapije.<sup>1</sup> Bez obzira na prisustvo komplicirajućih faktora, infekcije urinarnog trakta kod muškaraca, djece i trudnica smatraju se kompliciranim. Među komplicirajuće faktore ubrajaju se:

- dijabetes melitus
- trudnoća
- nozokomijalna infekcija
- kronična bolest bubrega
- opstrukcija urinarnog trakta (primjerice, uzrokovana benignom hiperplazijom prostate, benignim i malignim tumorima urinarnog trakta)
- prisustvo stranog tijela: urinarnog katetera, ureteralnog stenta ili nefrostome
- nedavni urološki operativni zahvat na na urinarnom traktu
- funkcionalna ili anatomska abnormalnost urinarnog trakta (primjerice, vezikoureteralni refluks, neurogeni mjehur, divertikul mokraćnog mjehura)
- stanje nakon transplantacije bubrega

- imunosupresija (primjerice, terapija imunosupresivnim lijekovima, stanje nakon kemoterapije)

Infekcija urinarnog trakta uzrokovana multirezistentnim uropatogenom također se smatra kompliciranom iako nema podataka o tome da je šansa za terapijski uspjeh smanjena ako se koristi antibiotik na kojeg je uzročni patogen osjetljiv.<sup>1</sup>

**Infekcija donjeg urinarnog trakta** može biti nekomplicirana ili komplicirana, a simptomi i znakovi obuhvaćaju febrilitet, dizuriju, polakisuriju, urgenciju, suprapubičnu osjetljivost i/ili hematuriju.<sup>1</sup>

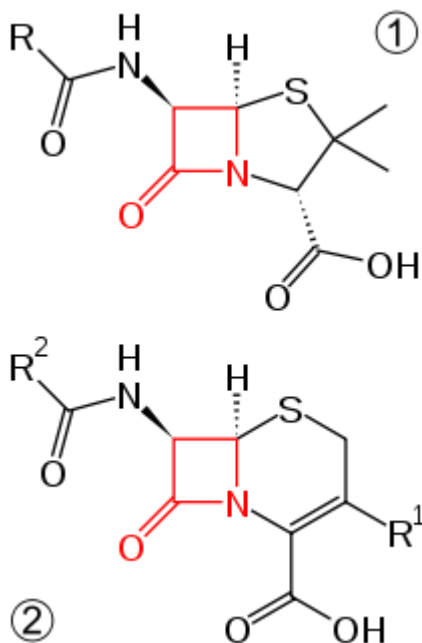
**Akutni pijelonefritis** je infekcija gornjeg urinarnog trakta, a obilježena je sljedećim simptomima i znakovima: vrućica, zimice i tresavice, mučnina i povraćanje, osjetljivost/bolovi lumbalno, bolna lumbalna sukusija. Pijelonefritis može biti udružen s bakterijemijom uzrokovanom patogenom izoliranim u urinu.<sup>2</sup>

## 1.2. Povijest i klasifikacija beta laktamaza

Beta laktamaze su glavni obrambeni mehanizam gram negativnih bakterija protiv beta laktamskih antibiotika. Ovi su enzimi bili prisutni kod patogenih bakterija daleko prije dolaska beta laktamskih antibiotika na tržište, pa se tako procjenjuje da su serinske beta laktamaze postojale već prije više od 2 milijarde godina.<sup>3</sup> Beta laktamaze su bakterijski enzimi koji reakcijom hidrolize cijepaju beta laktamski prsten, čime inaktiviraju beta laktamske antibiotike. 1960-ih godina prvi izvještaji o beta laktamazama dolaze iz Grčke. Ovi su enzimi hidrolizirali beta laktamske prstenove penicilina i cefalosporina I. generacije (poput cefazolina i cefalotina), dok nisu djelovali na cefalosporine viših generacija koji se strukturno razlikuju oksimino postraničnim lancem (poput cefotaksima, ceftazidima, ceftriaksona (cefalosporina III. generacije) i cefepima (cefalosporina IV. generacije)). Nazvani su TEM, prema bolesnici kod koje su izolirani (Temoniera). Uskoro je otkriven i srodan enzim, koji se razlikovao u samo jednoj aminokiselini te je imao ista biokemijska svojstva, a nazvan je TEM-2. Genska informacija za ove enzime prenosi se između gram negativnih bakterija (poput Enterobakterija, Pseudomonasa, Haemophilusa, Neisseriae) plazmidima. TEM-1 i TEM-2 su najraširenije plazmidima prenošene beta laktamaze među gram negativnim bakterijama, a najčešće se izoliraju kod enterobakterija *E. coli* i *K. pneumoniae*.<sup>4,5</sup> Međutim, ESBL produkcija se opisuje i kod Proteusa, Pseudomonasa, Serratiae, Enterobactera, Salmonelle, Acinetobactera, Citrobactera i drugih.<sup>6</sup> TEM-1 se nalazi u gotovo 90% izolata *E. coli* rezistentne na ampicilin.<sup>7</sup> Do sad je opisano više od 130 TEM beta laktamaza.<sup>5</sup>

Početak upotrebe beta laktamskih antibiotika predstavljao je selekcijski tlak za odabir bakterija koje sadrže beta laktamaze, s posljedičnim povećanjem prevalencije takvih izolata, a došlo je i do prijenosa genske informacije za beta laktamaze putem plazmida na one vrste bakterija koje do tad nisu sadržavale beta laktamaze (npr. *N. gonorrhoeae* i *Haemophilus influenzae*).<sup>8</sup> Dolaskom na tržište antibiotika koji nisu bili podložni hidrolizi s tadašnjim beta laktamazama (cefamicini, cefalosporini s oksimino postraničnim lancem, karbapenemi, aztreonam), došlo je do pojave beta laktamaza proširenog spektra (ESBL), AmpC beta laktamaza i karbapenemaza.

Stotine do sad opisanih beta laktamaza prema primarnoj se molekularnoj strukturi dijele u 4 klase: A, B, C i D.<sup>9</sup> Također, koristi se i složenija funkcionalna klasifikacija koja se bazira na spektru djelovanja određene beta laktamaze i na stupnju njene podložnosti inhibiciji klavulanskom kiselinom.<sup>10</sup> Također, prema građi aktivnog enzimskog mjesta, postoje 2 skupine beta laktamaza: serinske beta laktamaze (koje u aktivnom mjestu sadrže serinski ostatak, a pripadaju klasama A, C i D) i metalo beta laktamaze (koje kao kofaktor aktivnog mjesta sadrže ion cinka, a pripadaju klasi B beta laktamaza).



**Slika 1.** Prikaz beta laktamskog prstena (crveno) te osnovne strukture penicilina (1) i cefalosporina (2). Preuzeto iz wikipedia.

ESBL fenotip označava sposobnost bakterije za enzimski posredovanu hidrolizu beta laktamskog prstena penicilina, cefalosporina sa oksimino postraničnim lancem i aztreonama. Također, prema definiciji ESBL enzimi osjetljivi su na djelovanje inhibitora klavulanske kiseline. ESBL geni se često prenose plazmidima koji također sadrže gensku informaciju odgovornu za dodatnu rezistenciju na druge grupe antibiotika poput aminoglikozida, fluorokinolona i kombinacije trimetoprima i sulfometoksazola. ESBL enzimi se najčešće pronalaze kod *Klebsiella pneumoniae* i *E. coli*, a zastupljenost ESBL fenotipa kod navedenih bakterija široko varira između različitih geografskih područja, a uglavnom je viša kod *Kl. pneumoniae* nego kod *E. coli*. Glavni rezervoari ovih rezistentnih patogena su bolničke ustanove i stacionari za kronične bolesnike.<sup>11</sup> Liječenje ovih infekcija najčešće se provodi karbapenemima ili kombinacijom beta laktamskog antibiotika i inhibitora beta laktamaze.

#### *TEM - tip ESBL (klasa A)*

Promjene strukture TEM beta laktamaza, vezane za izmjenu slijeda aminokiselina koje grade enzimsko aktivno mjesto, mijenjaju konfiguraciju enzima, čime omogućavaju pristup antibioticima koji sadrže oksimino postranični lanac (cefalosporini viših generacija i monobaktam aztreonam). Takve mutacije dovode do

ESBL fenotipa, koji omogućava cijepanje beta laktamskog prstena penicilina, cefalosporina i aztreonama.<sup>12</sup> Ovakva promjena aktivnog mjesta tipično također dovodi do podložnosti inhibiciji enzima molekulama poput klavulanske kiseline. Mutacije koje dovode do rezistencije prema inhibitorima beta laktamaza su različite od onih koje dovode do ESBL fenotipa.<sup>5</sup> Kombinacija ESBL fenotipa i rezistencije prema inhibitorima moguća je, ali vrlo rijetka.<sup>13</sup>

#### *SHV – tip ESBL (klasa A)*

Oznaka SHV odnosi se na varijabilni odgovor ove vrste beta laktamaza na sulfhidrilne inhibitore (engl. sulfhydryl variable). Radi se o tipu beta laktamaza koje pripadaju klasi A, a strukturno su slične TEM beta laktamazama, s kojima dijele 68% slijeda aminokiselina.<sup>14</sup> Slično kao kod TEM beta laktamaza, ESBL fenotip nastaje promjenom slijeda jedne ili više aminokiselina u aktivnom mjestu enzima. Poznato je 60-ak vrsta SHV beta laktamaza, te u Europi predstavljaju dominantni (najčešći) tip ESBL.

#### *CTX-M – tip ESBL (klasa A)*

Oznaka CTX odnosi se na sposobnost ove vrste enzima za hidrolizu beta laktamskog prstena cefotaksima (cefalosporin III. generacije). Time se želi istaknuti veća sposobnost za hidrolizu cefotaksima nego drugih cefalosporina III. generacije, koji također sadrže oksimino postranični lanac (npr. ceftazidim, ceftriakson). Radi se o obitelji ESBL koja je manje zastupljena od TEM ili SHV tipa ESBL (dakle, 3. po učestalosti), a do sad je opisano više od 40 CTX-M enzima.

#### *OXA – tip ESBL (klasa D)*

Oznaka OXA ovog tipa beta laktamaza odnosi se na sposobnost hidrolize beta laktamskog prstena oksacilina. OXA – tip ESBL pronalazi se najčešće kod *Pseudomonasa aeruginose*.<sup>15</sup> Ovaj tip ESBL odlikuje relativna otpornost prema inhibiciji klavulanskom kiselinom.

#### *Plazmidima prenošeni AmpC enzimi (klasa C)*

AmpC beta laktamaza otkrivena je 1940. godine u *E. coli* te je ujedno prva identificirana beta laktamaza. Genska informacija za AmpC beta laktamaze sadržana je u mnogim gram negativnim bakterijama, i to najčešće u kromosomskoj DNA. Mutacija koja dovodi do povećanja ekspresije ovog enzima u bakteriji *Enterobacter*

cloacae, odgovorna je za otpornost ove bakterije na cefalosporine.<sup>16</sup> AmpC beta laktamaza je slabo eksprimirana u *E. coli*, dok *Klebsiella* ne sadrži AmpC gen u kromosomskoj DNA. AmpC gen može se međutim prenositi u ove bakterije plazmidima (opisano je više od 20 AmpC beta laktamaza koje se prenose plazmidima), osiguravajući im rezistenciju na cefalosporine.<sup>16</sup> Ove beta laktamaze sposobne su inaktivirati beta laktamske antibiotike s oksimino postraničnim lancem, kao i cefamicine (za razliku od ESBL koje ne djeluju na II. generaciju cefalosporina), a dodatna karakteristika im je otpornost na djelovanje klavulanske kiseline, tako da inaktiviraju i beta laktame u kombinaciji s inhibitorima beta laktamaza. Također važno svojstvo ovog enzima je inducibilnost nakon izlaganja terapiji, pa se tako kod infekcije *Enterobacterom* opisuje stjecanje otpornosti tijekom provođenja liječenja. Navedena svojstva ih čini klinički važnim beta laktamazama.<sup>17</sup>

### *Karbapenemaze (klase A, B i D)*

Osobitost ove heterogene grupe enzima je sposobnost inaktivacije ne samo cefamicina i cefalosporina s oksimino postraničnim lancem, nego i karbapenema. Otporne su na djelovanje inhibitora beta laktamaza. Drugim riječima, imaju odlike ESBL fenotipa s proširenim spektrom djelovanja i na cefamicine i karbapeneme, uz dodatak rezistencije na djelovanje inhibitora beta laktamaza. Plazmidima prenošene karbapenemaze IMP tipa (oznaka IMP označava sposobnost inaktivacije imipenema) prvi puta su opisane 1990-ih godina u Japanu u enteralnim gram negativnim bakterijama, *Pseudomonasu* i *Acinetobacteru*. Odatle su se plazmidima širile, tako da se 1997. godine opisuju u Europi. Također, 1999. godine u Italiji je opisana nova VIM obitelj karbapenemaza (od engl. akronima za "Verona integron-encoded metallo- $\beta$ -lactamase"), koja se odatle širila po ostatku Europe. Također, opisan je i OXA – tip karbapenemaza. Širenje enterobakterija, posebno *Kl. pneumoniae*, s ekspresijom karbapenemaza različitih tipova, izaziva veliku zabrinutost u medicinskoj zajednici zbog teškog liječenja infekcija uzrokovanih ovim bakterijama. Najčešće se terapijski koriste kolistin i tigeciklin.<sup>18</sup>

### 1.3. Kliničko značenje ESBL bakterijskih sojeva

ESBL fenotip dovodi do bakterijske otpornosti na niz antibiotika poput penicilina, cefalosporina i aztreonama pa se radi o multirezistentnim patogenima. Nadalje, geni za ESBL enzime prenose se plazmidima koji također često sadržavaju gene koji dovode do otpornosti i na fluorokinolone, sulfonamide i aminoglikozide, čime karbapenemi nerijetko ostaju jedina terapijska opcija za liječenje infekcija uzrokovanih ovim multirezistentnim patogenima. Budući da je cijena karbapenema visoka, a moraju se primjenjivati u bolničkim uvjetima (parenteralno), infekcije uzrokovane ESBL sojevima predstavljaju značajno opterećenje za zdravstveni sustav. Klinički značaj ovih sojeva također proizlazi iz njihove proširenosti u cijelom svijetu, i to u bolničkoj, ali i vanbolničkoj populaciji bolesnika.<sup>19</sup> Konačno, prevalencija ESBL sojeva je u porastu,<sup>11</sup> a infekcije uzrokovane ovim sojevima imaju lošiji klinički ishod. Do bakterijemije prema kliničkim i mikrobiološkim istraživanjima dolazi u 15-20% slučajeva infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL sojevima *E. coli*.<sup>20</sup> Infekcije bakterijskim sojevima *E. coli* i *K. pneumoniae* koje produciraju ESBL udružene su s dužim trajanjem bolničkog liječenja te samim time i većim zdravstvenim troškovima.<sup>21, 22</sup> Također, ESBL producirajuće bakterije pokazuju veću invazivnost i udružene su s infekcijama praćenima većim mortalitetom.<sup>6</sup> Prema konsenzusu Američke radne skupine za dostupnost antimikrobnih lijekova (AATS – od engl. “Antimicrobial Availability Task Force”) ESBL sojevi se već od 2006. ubrajaju među 6 klinički najznačajnijih multirezistentnih patogena, zajedno s meticilin rezistentnim zlatnim stafilokokom, *Ps. aeruginosa*, vankomicin rezistentnim enterokokom, *Acinetobacterom baumannii* i *Aspergillusom*.<sup>23</sup> Zbog sve ograničenijih mogućnosti liječenja bolesnika inficiranih sa multirezistentnim sojevima bakterija, danas raste interes za istraživanjem starijih antibiotika poput fosfomicina, kao potencijalnim lijekovima „zadnje linije terapije”.

## 1.4. Epidemiologija infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL bakterijskim sojevima

Porast rezistencije na antibiotike značajan je i aktualni globalni medicinski problem. Povećanje prevalencije multirezistentnih gram negativnih bakterija postupno dovodi do smanjenja broja raspoloživih antibiotika za učinkovito liječenje mnogih infekcija uzrokovanih ovim uzročnicima. Budući da se ozbiljne infekcije uzrokovane multirezistentnim gram negativnim patogenima često liječe karbapenemima raste opasnost i od širenja sojeva koji posjeduju karbapenemaze, pa se sve češće opisuju sojevi poput New Delhi metalo beta-laktamaze (NDM), što znači da će u budućnosti terapijske opcije biti još ograničenije. U tom je smislu posebno važno infekcije uzrokovane ESBL patogenima liječiti starijim antibioticima poput fosfomicina, koji imaju mali potencijal „kolateralne štete“, odnosno poticanja daljnjeg razvoja rezistencije na antibiotike.<sup>24</sup>

Infekcije urinarnog trakta najčešće su bakterijske infekcije u osoba ženskog spola.<sup>25</sup> Prevalencija ESBL sojeva među uropatogenima koji dovode do kompliciranih infekcija urinarnog trakta je u porastu. Primjerice, u jednom istraživanju provedenom u SAD-u prevalencija ESBL sojeva *E. coli* među hospitaliziranim bolesnicima s infekcijama urinarnog trakta od 2000. do 2009. godine se utrostručila.<sup>26</sup> Upravo zbog porasta prevalencije ESBL sojeva među urinarnim patogenima raste interes za istraživanjem potencijala starijih antibiotika poput fosfomicina i nitrofurantoina.<sup>27, 28</sup> ESBL enzimi se najčešće pronalaze kod *Klebsiella (pneumoniae i oxytoca)* i *E. coli*. Glavni rezervoari ovih rezistentnih patogena su bolničke ustanove i stacionari za kronične bolesnike.<sup>11</sup>

Dodatni problem predstavlja sve veći udio ESBL izolata u ukupnom broju vanbolničkih izolata *E. coli*. U istraživanju Arslana i suradnika, od 514 ambulantnih urinarnih izolata *E. coli* čak ih je 7.9% produciralo beta laktamaze proširenoga spektra.<sup>29</sup> Prema rezultatima SMART studije (od engl. “Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends”) koja je provedena 2008. i 2009. godine prevalencija ESBL izolata među kliničkim izolatima *E. coli* iznosila je 11% u Europi i 8% u Španjolskoj.<sup>30</sup> Podaci EARSS-a (od engl. “European Antimicrobial Surveillance System”) ukazuju na progresivni porast detekcije ESBL sojeva. 2004. je godine prevalencija ESBL sojeva među izolatima *E. coli* u Europi iznosila 1.1%, da bi do 2013. godine porasla na 9.9%. U tom smislu se može govoriti o tome da su podaci „alarmantni“ i da je potrebno pronalaziti učinkovitije mjere prevencije širenja ovih sojeva i mjere liječenja infekcija uzrokovanih ovim sojevima. Raspon između regija Europe je velik. Primjerice, u 2010. je prevalencija *E. coli* ESBL u Europi pokazivala raspon od 2.6% u Švedskoj do 24.8% u Bugarskoj. Općenito se može reći da se godinama primjećuje porast prevalencije različitih multirezistentnih sojeva u smjeru sjever-jug.<sup>31</sup>



Akutne infekcije uzrokovane ESBL sojevima mogu se učinkovito izliječiti antibiotskom terapijom. Međutim, kolonizacija kože i gastrointestinalnog trakta (nerijetko trajna) predstavlja kod bolesnika s preboljelom infekcijom uzrokovanom ESBL bakterijskim sojem značajan problem. Navedeno vrijedi čak i ako su urinokulture nakon terapije sterilne, a prijenos ovih bakterija odvija se direktnim i indirektnim kontaktom. Multirezistentni organizmi se često prenose s bolesnika na bolesnika rukama zdravstvenog osoblja, što posebno vrijedi za osobe direktno uključene u njegu bolesnika. Posljedično su često opisivane intrainstitucionalne epidemije ovih infekcija. Zbog toga se kod bolesnika koji se liječe ili su bili liječeni zbog infekcije uzrokovane multirezistentnim mikroorganizmom (uključujući i sojeve koji proizvode ESBL) preporučaju mjere stroge kontaktne izolacije, uz striktno pridržavanje higijenskih mjera.<sup>6</sup>

Faktori rizika za akviriranje ESBL sojeva uključuju upotrebu antibiotika u protekla 3 mjeseca (cefalosporini II i III generacije, fluorokinoloni, penicilini), hospitalizaciju u protekla 3 mjeseca, stariju životnu dob, prijašnju infekciju s *K. pneumoniae*, dijabetes melitus i anamnezu invazivnih uroloških zahvata.<sup>22</sup>

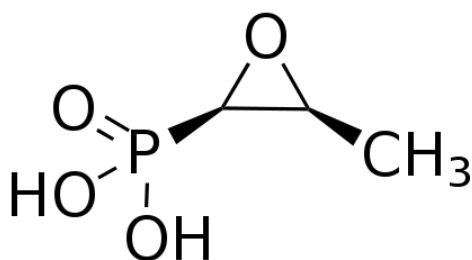
## 1.5. Smjernice za liječenje infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL sojevima

Zlatni standard u liječenju urinarnih infekcija uzrokovanih ESBL sojevima su karbapenemi, pogotovo kad se radi o teškim oblicima infekcija poput akutnog kompliciranog pijelonefritisa.<sup>32</sup> Oni se smatraju jedinom pouzdanom i dokazano učinkovitom terapijom za ove vrste infekcija. Strukturno su definirani zamjenom atoma sumpora u peteročlanom nezasićenom prstenu (fuzioniranim s beta laktamskim prstenom) atomom ugljika. Primjeri su imipenem (koristi se isključivo u kombinaciji s cilastatinom, jer u protivnom dolazi do razgradnje imipenema renalnim enzimom dehidropeptidazom), meropenem, ertapenem i doripenem. Ertapenem se jedini primjenjuje jednom dnevno, što omogućava liječenje bolesnika s infekcijama urinarnog trakta uzrokovanih ESBL bakterijskim sojevima u uvjetima dnevne bolnice. Svi ostali karbapenemi moraju se aplicirati 2 ili 3 puta dnevno. Standardna, i vjerojatno najčešće upotrebljavana terapija, je meropenem 3x500 mg i.v. Iako se karbapenemi smatraju učinkovitim liječenjem infekcija uzrokovanih ESBL bakterijskim sojevima, većina dokaza proizlazi iz opservacijskih studija. Nadalje, glavne mane su im nužnost parenteralne primjene i visoka cijena. Također, njihov široki antimikrobni spektar predstavlja istovremeno je i prednost i mana ovih lijekova, budući da svojom širokom djelotvornosti mogu dovesti do infekcija uzrokovanih drugim bakterijama te kvascima. Velik je, i sve veći problem pojava i širenje sojeva rezistentnih na karbapeneme, poput *K. pneumoniae* koja proizvodi karbapenemazu. Iz toga i drugih sličnih i brojnih opservacija proizlazi da u svrhu izbjegavanja razvoja i širenja multirezistentnih mikroorganizama treba težiti što je moguće ciljanijom terapiji u liječenju bakterijskih infekcija. Vezano za karbapenem u tom smislu treba istaknuti da je činjenica da ertapenem ne djeluje na *Pseudomonas* povoljna u smislu manjeg potencijala širenja rezistencije.<sup>6</sup>

Kod bolesnika s infekcijama urinarnog trakta gdje je uzročnik ESBL soj *E. coli*, a ne sumnja se na pijelonefritis, prikladne peroralne antibiotske opcije su nitrofurantoin i fosfomicin ako su izolati osjetljivi, iako su dostupni klinički podaci oskudni.<sup>1</sup>

## 1.6. Otkriće, struktura i farmakodinamika fosfomicina

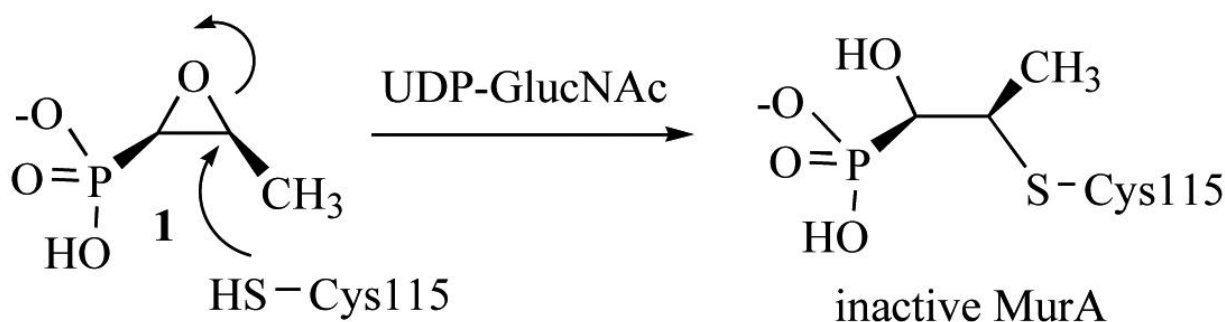
Fosfomicin je antibiotik širokog spektra kojega u prirodi sintetiziraju neke bakterije iz roda *Streptomiceta*, a danas se dobiva kemijskom sintezom. Otkriven je probirom kultura bakterije *Streptomyces fradiae*, izolirane iz tla, kod koje je zamijećena sposobnost formiranja sferoplasta (kuglasto formirani oblik bakterije kojoj nedostaje stanični zid). 1969. godine izoliran je iz kultura navedene bakterije u Španjolskoj, a komercijalno se proizvodi od 1971. Izolacija fosfomicina iz streptomiceta vršena je u laboratorijima farmaceutskih tvrtki MSD (Merck, Sharp & Dome) i CEPA (Compania Espanola de Penecilina y Antibioticos).<sup>33</sup> Početak kliničke upotrebe u Europi vezan je tek za kraj 80-ih godina prošlog stoljeća, jer su tek 1983. godine (14 godina nakon otkrića fosfomicina) Andrews i suradnici standardizirali *in vitro* testiranje osjetljivosti na fosfomicin. Tad je ustanovljeno da je za puni *in vitro* učinak fosfomicina potreban dodatak glukoza-6-fosfata u testni medij. Prije toga su rezultati *in vitro* djelovanja fosfomicina bili razočaravajući.<sup>34</sup> Time je *in vitro* omogućeno simuliranje *in vivo* djelovanja fosfomicina.



**Slika 2.** Prikaz strukture fosfomicina.

Fosfomicin je epoksid fosfanske kiseline (cis-1,2-epoksi-propil fosfonska kiseline) te kao takav ne pripada niti u jednu skupinu antibiotika (Slika 2). Aktivni reaktivni dio molekule predstavlja epoksidna skupina koja posjeduje baktericidnu aktivnost (vidi niže). Po molekularnoj masi najmanji je poznati antibiotik (Mr 138.06). Njegov prijenos u bakterijsku stanicu odvija se aktivnim transportom pomoću L- $\alpha$ -glicerolfosfatnog transportnog sustava koji predstavlja primarni put ulaska fosfomicina u stanicu, dok heksoza fosfatni transportni sustav, inducibilan glukoza-6-fosfatom, predstavlja sekundarni put. Zbog navedenog je u *in vitro* testiranju osjetljivosti na fosfomicin potreban dodatak glukoza-6-fosfata. Upravo su mutacije gena za navedene transportere najčešći mehanizam rezistencije na fosfomicin.<sup>35</sup> Djeluje baktericidno inhibirajući najraniji stadij sinteze peptidoglikana (komponente staničnog zida bakterije). Ireverzibilnom inhibicijom enzima enolpiruvil transferaze

(kompetirajući s prirodnim supstratom ovog enzima - fosfoenolpiruvatom) dovodi do kočenja sinteze N-acetil muraminske kiseline (transformacijom iz N-acetil glukozamina) – ključne komponente bakterijskog staničnog zida. Prvi opis mehanizma djelovanja ovog jedinstvenog antibiotika dolazi 1974. godine od Kahana i suradnika.<sup>35</sup> Nakon stereospecifičnog vezanja za svoju ciljnu makromolekulu – enolpiruvil transferazu, dolazi do prekidanja kisikovih veza i formiranja reaktivnog intermedijera koji ireverzibilno alkilira nukleofilno aktivno mjesto bakterijskog enzima smještenog u membrani stanice. Navedena reakcija zbiva se u citoplazmi bakterijske stanice i prikazana je na Slici 3.



**Slika 3.** Prikaz interakcije fosfomicina s aktivnim mjestom enzima enolpiruvil transferaze

Time fosfomicin djeluje na najranijem koraku sinteze peptidoglikana, za razliku od beta laktamskih antibiotika i glikopeptida, koji inhibiraju međusobno povezivanje lanaca peptidoglikana.

Učinak fosfomicina je baktericidan, jer interferencijom sa sintezom stanične stijenke dolazi do pucanja stanične membrane bakterijske stanice. Naime, budući da je koncentracija osmotski aktivnih čestica veća unutar nego izvan bakterijske stanice, stanična je stijenka nužna za sprječavanje prsnuća stanične membrane. Fosfomicin djeluje i dodatnim mehanizmom smanjujući prijanjanje bakterija za urinarni epitel. Navedeno je *in vitro* dokazano za *E. coli*, *P. mirabilis* i *Ps. aeruginosa*.<sup>36</sup>

Baktericidni učinak fosfomicina ovisi o vremenu kroz koje je koncentracija fosfomicina u urinu veća od MIK-a (tzv. “time-dependant killing”).<sup>37</sup> Optimalno djelovanje postiže se kad je koncentracija fosfomicina veća od MIK-a kroz 40-50% intervala doziranja.<sup>38</sup> Studije vremenske inhibicije (engl. “time-kill studies”) ukazuju na to da fosfomicin trometamol ubija 99% *S. aureusa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobactera cloacae* i *Citrobactera freundii* kroz 2.9 h kad su koncentracije fosfomicina dvostruko veće od MIK-a, dok povećanje koncentracije fosfomicina na 8 puta veće od MIK-a skraćuje to vrijeme na 2.2 h. Iako navedena razlika nije klinički

bitna, istraživanje dobro ilustrira brzinu baktericidnog djelovanja fosfomicina.<sup>39</sup> *In vitro* je fosfomicin pri koncentraciji  $\geq 4 \times \text{MIK}$  doveo do sterilizacije urina od *E. coli* za 6-8 h, a slični su rezultati dobiveni i za *P. mirabilis*. Navedeno ukazuje na vrlo brzi baktericidni učinak fosfomicina.<sup>40</sup>

Fosfomicin je antibiotik širokog spektra, učinkovit i protiv gram negativnih i protiv gram pozitivnih bakterija. *In vitro* antibakterijski spektar sa stopom osjetljivosti od  $\geq 90\%$  obuhvaća najčešće urinarne patogene: *E. coli*, *Klebsiella oxytoca*, *K. pneumoniae*, *Proteus* spp., *Staphylococcus* spp. (uključujući MRSA – meticilin rezistentni *S. aureus*), *Ps. aeruginosa*, *E. faecalis*, *E. faecium* (uključujući VRE – vankomicin rezistentni enterokok), *Enterobacter*, *Serratia* spp, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter freundii*.<sup>24</sup> Osjetljivost *Ps. aeruginosa* je varijabilna, s rasponom MIK-a između 4 i  $>512$  mg/l. Općenito se može reći da je antimikrobna aktivnost fosfomicina slabija prema sljedećim uzročnicima: *Ps. aeruginosa*, *Morganella morganii*, *Porphyromonas vulgaris*, *Enterococcus faecium*.<sup>41</sup> Odobren je za liječenje nekomplikiranih infekcija donjeg urinarnog trakta uzrokovanim mikroorganizmima osjetljivima na fosfomicin te je široko upotrebljavan u mnogim europskim zemljama.

Dok je fosfomicin *in vitro* učinkovit protiv multirezistentnih bakterijskih patogena poput ESBL producirajućih sojeva enterobakterija, sojeva koji proizvode karbapenemaze, MRSA-e i VRE-a, ne pokazuje djelotvornost protiv *Acinetobacter baumannii*. U istraživanju Falagasa i suradnika 97% izolata *A. baumannii* bilo je rezistentno na fosfomicin.<sup>42</sup> S druge strane, u nedavnom istraživanju provedenom u SAD-u prikazana je dobra osjetljivost na fosfomicin sojeva koji su otporni na karbapeneme i vankomicin. Na fosfomicin je bilo osjetljivo 57% izolata *Klebsiela* rezistentne na karbapeneme (testirano 29 izolata), 60% izolata *E. faeciuma* rezistentnog na vankomicin (28 izolata) i 100% izolata *E. faecalis* rezistentnog na vankomicin (24 izolata).<sup>43</sup> Stoga se može reći da je fosfomicin *in vitro* djelotvoran protiv četiri od pet najznačajnijih bakterijskih multirezistentnih patogena (MRSA, VRE, ESBL sojevi, *Ps. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*) prema konsenzusu Američke radne skupine za dostupnost antimikrobnih lijekova. Samo je *Acinetobacter baumannii* u vrlo visokom postotku rezistentan na fosfomicin.

Nadalje, *Listeria monocytogenes* je rezistentna na fosfomicin, dok druge vrste listerije (pr. *Listeria ivanovii*) mogu biti osjetljive.<sup>44</sup> Anaerob *Bacteroides fragilis* i indol pozitivan *P. mirabilis* također su rezistentni na fosfomicin.<sup>24</sup>

## 1.7. Sinergija fosfomicina s drugim antibioticima

Fosfomicin pokazuje sinergistički učinak s aminoglikozidima. MacLeod i suradnici su *in vitro* i *in vivo* prikazali sinergiju fosfomicina i tobramicina protiv *Ps. aeruginosa* i MRSA. Navedena kombinacija je trenutno u fazi II kliničkih ispitivanja i aplicira se inhalacijski u omjeru 4:1. *Ps. aeruginosa* i MRSA su patogeni od interesa kod bolesnika s bronhiektazijama, posebno kod bolesnika s cističnom fibrozom koji su često kolonizirani pseudomonasom. Mehanizam sinergije nije do kraja utvrđen, ali se pretpostavlja da fosfomicin pospješuje aktivni transport tobramicina u bakterijske stanice pseudomonasa, čime dolazi do povećane inhibicije bakterijske sinteze proteina i baktericidnog učinka.<sup>37, 45</sup>

Yamada i suradnici prikazali su sinergiju fosfomicina i ciprofloksacina kod izolata *Ps. aeruginosa* rezistentnog na ciprofloksacin. Smatra se da je mehanizam bolja penetracija fosfomicina u citoplazmu bakterijskih stanica, zbog oštećenja njihove vanjske membrane ciprofloksacinom. Do zaključka se došlo zbog opservacije da je sinergistički učinak izraženiji ako se bakterije prvo izlože ciprofloksacinu pa onda fosfomicinu, umjesto obrnuto.<sup>46</sup>

Do sličnih se rezultata došlo i u istraživanju izolata *Ps. aeruginosa* iz sputuma bolesnika s cističnom fibrozom, gdje je *in vitro* dokazana sinergija između ciprofloksacina i fosfomicina. Sinergistički je učinak dokazan u 60%, a aditivni u 40% slučajeva.<sup>47</sup>

U većini publikacija prikazana je sinergija fosfomicina s različitim drugim antibioticima na primjerima *Ps. aeruginosae* i *S. aureusa*, dok praktički nema istraživanja sinergije kod *E. coli* i *K. pneumoniae*. Također je važno naglasiti da je broj testiranih izolata u većini istraživanja malen i da su rezultati sinergije često nekonzistentni pa je na temelju takvih *in vitro* istraživanja teško donositi definitivne zaključke o klinički učinkovitim kombinacijama fosfomicina i drugih antibiotika. Nadalje, metodologija istraživanja i definicija sinergije varira između studija.<sup>24</sup>

Sinergizam fosfomicina s drugim antibioticima pokušava se iskoristiti u kliničkoj praksi kako bi se spriječio razvoj rezistencije na fosfomicin, što predstavlja bojazan kod prolongirane primjene parenteralnog oblika fosfomicina. Najviše istraživanja govori u prilog sinergije fosfomicina s drugim antibioticima koji inhibiraju sintezu stanične stijenke, i to kod sljedećih bakterija: *S. aureus*, koagulaza negativni stafilokok, *Ps. aeruginosa* i *S. pneumoniae*.<sup>48</sup>

U preglednom radu 41 uključene studije sinergije fosfomicina s drugim antibioticima istraživanja osjetljivosti MRSA izolata ukazuju na sinergiju fosfomicina sa sljedećim antibioticima: cefazolin, ceftriakson, ciprofloksacin, imipenem i rifampicin, dok protiv *Ps. aeruginosa* izolata fosfomicin potencijalno sinergistički

djeluje s gentamicinom, amikacinom, ceftazidimom, cefepimom, ciprofloksacinom, levofloksacinom i aztreonamom. Velika je većina istraživanja sinergije fosfomicina kod gram negativnih bakterija provedena kod *Pseudomonasa*. Valja naglasiti da je u pregladu Kastorisa i suradnika u samo jednom od 41 istraživanja promatrana sinergija fosfomicina kod *E. coli* i *K. pneumoniae*. U tom je radu dokazana sinergija fosfomicina i gentamicina kod 4/30 izolata *E. coli* te kod 5/12 izolata *K. pneumoniae*.<sup>49, 50</sup> Potrebno je također istaknuti da niti u jednom od 41 rada nije promatrana sinergija fosfomicina i drugih antibiotika kod ESBL izolata *E. coli* i *K. pneumoniae*.

Zanimljiva studija Marchesea i suradnika ukazuje na sinergiju fosfomicina i N-acetil cisteina protiv biofilm izolata *E. coli*. N-acetil cistein je antioksidans koji prekidajući disulfidne veze u sluzi djeluje kao mukolitik (primjenjuje se u terapiji cistične fibroze), a koristi i u venskom obliku kod liječenja intoksikacije paracetamolom. Biofilmovi predstavljaju bakterijske stanice ugrađene u vlastiti polimerni matriks koji prijanja za prirodne ili umjetne površine. U navedenim formacijama bakterijske su stanice djelomično zaštićene od obrambenih mehanizama organizma kao i od djelovanja antibiotika. Dok antibiotska terapija najčešće dovodi do povlačenja simptoma infekcije uništavanjem bakterija koje se otpuštaju s biofilma, često se ne uspijeva postići eradikacija sesilnih stanica ugrađenih u biofilm.<sup>51</sup> S kateterom vezana infekcija urinarnog trakta i akutni cistitis primjeri su bakterijskih infekcija za koje je karakteristično formiranje biofilma. Fosfomicin i N-acetil cistein primjenjivani su u koncentracijama koje se redovito postižu u urinu tijekom terapije. N-acetil cistein inhibirao je stvaranje biofilma, ali i remetio strukturu formiranog biofilma svih ispitivanih sojeva *E. coli*. Učinak je rasao s porastom koncentracije lijeka. Fosfomicin je sâm, bez dodatka N-acetil cisteina pokazao sposobnost uništavanja sesilnih bakterijskih stanica biofilma, a navedeni je učinak sinergistički pojačan dodatkom N-acetil cisteina. Autori naglašavaju potrebu za dobro dizajniranim kliničkim ispitivanjima kojima bi se *in vivo* potvrdio navedeni koncept.<sup>52</sup>

## 1.8. Farmakokinetika fosfomicina trometamola

Sâm fosfomicin je nestabilan u kiselom miljeu želuca, što priječi peroralnu primjenu. Stoga je razvijen peroralni oblik fosfomicina (fosfomicin trometamol) koji se brzo apsorbira u gastrointestinalnom traktu i čija biodostupnost iznosi između 30% (pri uzimanju lijeka uz obrok) i 37% (pri uzimanju lijeka na prazan želudac).<sup>53, 54</sup> Nakon apsorpcije u plazmi se hidrolizom iz fosfomicina trometamola oslobađa djelatna tvar fosfomicin.<sup>41</sup> Vršna koncentracija u plazmi nakon jednokratne oralne primjene fosfomicina postiže se unutar 4 h od uzimanja lijeka (otprilike nakon 2-2,5 h) i iznosi 22 – 32 mg/l.<sup>55, 56</sup> Prosječna maksimalna serumska koncentracija fosfomicina nakon peroralne primjene doze od 3 g na prazan želudac unutar 2 h iznosila je 26.1 mg/l. Pri uzimanju lijeka uz obrok prosječna maksimalna koncentracija iznosila je 17.6 mg/l. Slijedi da se peroralni oblik fosfomicina ne može primjenjivati za liječenje sistemskih bakterijskih infekcija. Iako je izlučivanje fosfomicina urinom bilo sporije kad se uzimao s obrokom u odnosu na izlučivanje kad se uzimao na prazan želudac, valja naglasiti da je kumulativna količina fosfomicina izlučenog u urinu bila ista pa se lijek može uzimati neovisno o obroku.<sup>53</sup>

Fosfomicin se izlučuje nepromijenjen urinom i stolicom. Nakon oralne primjene jednokratne doze fosfomicina od 3 g, oko 38% fosfomicina se izluči urinom, a oko 18% stolicom.<sup>53</sup> Nakon aplikacije jednokratne peroralne doze fosfomicina, u urinu se unutar 4 h postižu vršne koncentracije lijeka koje mogu biti veće od 2000 mg/l.<sup>57</sup> Uzimajući minimalnu koncentraciju fosfomicina u urinu od 128 mg/l kao onu koja pokazuje aktivnost prema većini urinarnih patogena, može se očekivati inhibitorni učinak fosfomicina kroz 36 - 48 h nakon aplikacije jednokratne peroralne doze od 3 grama.<sup>53, 58</sup> Prosječna koncentracija fosfomicina u urinu u uzorcima sakupljenima 72-84 h nakon jednokratne peroralne doze iznosila je 10 mg/l.<sup>53</sup> Uz umjerenu razinu renalne insuficijencije urinarne koncentracije fosfomicina ostaju terapijski adekvatne, iako je vrijeme polueliminacije produljeno.<sup>59</sup>

Fosfomicin ima zanemarivi udjel vezanja za proteine plazme od 1-2%.<sup>24</sup> Kao mala hidrofilna molekula, fosfomicin pokazuje izvrsnu tkivnu raspodjelu. Prodire u tkivo bubrega, prostate, seminalnih vezikula te u stijenku mokraćnog mjehura, iako su koncentracije niže od onih u urinu.<sup>53</sup> Primjerice, prosječna koncentracija fosfomicina u sluznici mokraćnog mjehura (uzimajući uzorke zdravog tkiva) iznosila je 17.2 mcg/g tkiva 6 h nakon primjene jednokratne doze fosfomicina trometamola bolesnicima kod kojih je bio planiran urološki operativni zahvat zbog karcinoma mokraćnog mjehura ili karcinoma prostate.<sup>60</sup>

S obzirom na volumen distribucije u ravnotežnom stanju od otprilike 18 do 27 litara, može se zaključiti da slabo prodire u stanice te se primarno raspodjeljuje u plazmi i izvanstaničnoj tekućini.<sup>61</sup> Budući da se radi o maloj hidrofilnoj molekuli,



fosfomicin se eliminira hemodijalizom te se stoga preporučuje doziranje nakon hemodijalize.<sup>2</sup> U farmakokinetičkoj studiji provedenoj na 12 bolesnika s dokazanom ili suspektnom bakterijskom infekcijom u jedinici intenzivnog liječenja (JIL), fosfomicin se učinkovito eliminirao kontinuiranom venovenskom hemofiltracijom. Eliminacija je unutar intervala doziranja od 12 h jedne i.v. doze od 8 g iznosila 76%. Stoga autori zaključuju da je za bolesnike na kontinuiranoj venovenskoj hemofiltraciji prikladno doziranje kao kod bolesnika s normalnom renalnom funkcijom.<sup>62</sup> Fosfomicin se ne metabolizira u jetri i ne reapsorbira se enterohepatičnom cirkulacijom pa se ne očekuje akumulacija lijeka u bolesnika s jetrenom insuficijencijom<sup>24</sup>, već se u visokim koncentracijama u nepromijenjenom obliku izlučuje u urin. Dozu lijeka nije potrebno prilagođavati niti kod osoba starije životne dobi, ukoliko je funkcija bubrega normalna (smanjena uslijed starenja, ali ne i uslijed bolesti bubrega). Iz organizma se eliminira primarno glomerularnom filtracijom, bez izlučivanja tubularnom sekrecijom. Nakon intravenske primjene, oko 93% fosfomicina se eliminira putem bubrega.<sup>63</sup> Stoga kod bolesnika sa smanjenom bubrežnom funkcijom može doći do porasta koncentracije fosfomicina u plazmi, dok se uz visoke vrijednosti glomerularne filtracije mogu očekivati niže koncentracije lijeka u serumu i potencijalno neuspjeh liječenja kod životno ugroženih bolesnika liječenih intravenskim oblikom fosfomicina.<sup>64</sup>

Prema sažetku opisa svojstava lijeka Monuril, fosfomicin je kontraindiciran kod bolesnika s klirensom kreatinina nižim od 10 ml/min.<sup>53</sup> Vrijeme polueliminacije fosfomicina je kod 5 anuričnih bolesnika na hemodijalizi prosječno iznosilo 40 h. Prosječno vrijeme polueliminacije fosfomicina raslo je od 11 h do 50 h kod bolesnika s klirensom kreatinina u rasponu od 54 do 7 ml/min, a udio fosfomicina izlučenog urinom istovremeno je pao s 32 na 11%. Navedeni podaci jasno ukazuju na ovisnost eliminacije fosfomicina o bubrežnoj funkciji. Nadalje, prosječno vrijeme polueliminacije fosfomicina kod osoba s klirensom kreatinina 10-30 ml/min 5 puta je duže, a kod osoba s klirensom 2-10 ml/min 10 puta je duže nego kod osoba s normalnom bubrežnom funkcijom.<sup>65</sup> Zbog toga se kod osoba s klirensom kreatinina 10-50 ml/min kod prolongirane terapije preporuča uzimanje jedne doze fosfomicina trometamola svaki treći dan.<sup>2</sup> Drugi način prilagodbe doziranja je smanjenje individualne doze uz održavanje intervala doziranja istim. Bez obzira na to koji se režim doziranja koristi, za primjenu antibiotske terapije općenito vrijedi pravilo da je prva doza antibiotika uvijek ista bez obzira na razinu bubrežne funkcije. S tog je stajališta pitanje prilagodbe jednokratne doze fosfomicina s obzirom na stupanj renalne insuficijencije suvišno.<sup>66</sup> Navedeno je i prikazano u radu Janknegta i suradnika u kojem je sedam žena starije životne dobi (71-90 godina) sa smanjenom renalnom funkcijom (klirens kreatinina 21-72 ml/min) primilo jednokratnu dozu fosfomicina trometamola od 3 g. Prosječno je 37% doze izlučeno u urin, prosječna maksimalna koncentracija fosfomicina u urinu iznosila je 1,383 mg/l (unutar 12 h od uzimanja lijeka), dok je prosječna urinarna koncentracija nakon 72-84 h iznosila 143 mg/l. Navedeni podaci ukazuju na to da je izlučivanje fosfomicina iz organizma uz renalnu insuficijenciju duže, te je maksimalna urinarna koncentracija nešto niža nego

uz normalnu renalnu funkciju, ali uzimajući u obzir graničnu vrijednost MIK-a od  $\leq 32$  mg/l ili  $\leq 64$  mg/l, navedeno vrlo vjerojatno nema negativnih implikacija na uspjeh liječenja.<sup>59</sup>

Izbjegavanje akumulacije lijeka uslijed ponavljano doziranja fosfomicina trometamola moguće je osigurati ako se lijek primjenjuje svaka 3 vremena polueliminacije ili rjeđe. S obzirom na činjenicu da vrijeme polueliminacije uz normalnu bubrežnu funkciju iznosi oko 5 h, kod primjene lijeka svaki dan i dalje se ne može očekivati akumulacija.<sup>66</sup>

S druge strane, ako se fosfomicin primijeni jednokratno u dozi od 3 g, vršna koncentracija fosfomicina u plazmi je uz klirens kreatinina 10-30 ml/min tek dvostruko veća nego uz normalan klirens. Navedeno nema negativnih implikacija s obzirom na sigurnost primjene lijeka ako se uzme u obzir činjenica da se uz istu dozu intravenski primijenjenog fosfomicina kod osoba s normalnom bubrežnom funkcijom postiže vršna koncentracija lijeka u plazmi koja je 10 puta veća nego uz peroralnu primjenu lijeka.<sup>54</sup>

**Tablica 1.** Prikaz osnovnih farmakokinetičkih karakteristika fosfomicina trometamola, nakon primjene jedne doze od 3 g

Biodostupnost	30-37%
Volumen distribucije	
Vršna koncentracija u plazmi	22-32 mg/l (nakon 2-2.5 h od uzimanja lijeka)
Vršna koncentracija u urinu <sup>1</sup>	>2000 mg/l (nakon oko 4 h od uzimanja lijeka)
Prosječna koncentracija fosfomicina u urinu nakon 2-4 h od primjene lijeka <sup>1</sup>	706 mg/l
Vrijeme kroz koje se koncentracija fosfomicina u urinu održava na $\geq 128$ mg/l <sup>1</sup>	36-48 h
Prosječna koncentracija fosfomicina u urinu nakon 72-84 h od primjene lijeka <sup>1</sup>	10 mg/l
Vrijeme polueliminacije fosfomicina <sup>1</sup>	oko 5 h (2.4 – 7.3 h)
Prodiranje u tkiva u klinički značajnim koncentracijama nakon p.o. primjene	sluznica mokraćnog mjehura, prostata, bubreg, seminalne vezikule

<sup>1</sup> uz pretpostavku normalne renalne funkcije

## 1.9. Farmaceutski oblici, doziranje i klinička primjena fosfomicina

Trenutno dostupne formulacije uključuju fosfomicin trometamol, topljivu sol s poboljšanom oralnom biodostupnošću u usporedbi s fosfomicinom te fosfomicin dinatrij za intravensku upotrebu. U Europi, SAD-u i Japanu fosfomicin trometamol dostupan je pod nazivima Monuril ili Monurol, u pakiranjima od 5.61 g fosfomicina trometamola što je ekvivalentno 3 g čistog fosfomicina. Radi se o granulama koje se primjenjuju navečer prije spavanja, otopljene u hladnoj vodi. Lijek se preporuča uzeti na prazan želudac i nakon mokrenja. Primjena lijeka uz obrok može usporiti apsorpciju fosfomicina te dovesti do nešto nižih vršnih koncentracija u serumu i urinu, iako se ne očekuje značajan utjecaj hrane na učinkovitost liječenja infekcija urinarnog trakta fosfomicinom. Monuril je odobren za liječenje akutnih nekompliciranih infekcija donjeg urinarnog trakta uzrokovanih patogenima osjetljivima na fosfomicin. Također je indiciran za profilaksu u dijagnostičkim i kirurškim transuretralnim postupcima.<sup>53</sup> U SAD-u je fosfomicin specifično odobren za primjenu protiv podložnih sojeva *E. coli* i *E. faecalis*. U Italiji je fosfomicin odobren za liječenje mnogo kliničkih entiteta: akutni bakterijski cistitis, akutne epizode rekurentnog bakterijskog cistitisa, akutni bakterijski uretrovezikalni sindrom, nespecifični bakterijski uretritis, asimptomatska bakteriurija u trudnoći, postoperativne infekcije urinarnog trakta, profilaksa infekcija urinarnog trakta kod kirurških intervencija i dijagnostičkih transuretralnih postupaka.<sup>36</sup> U Španjolskoj je, kao u zemlji s najdužom tradicijom primjene fosfomicina, fosfomicin dostupan i u obliku kapsula fosfomicin kalcija od 500 mg, ampula fosfomicina dinatrija od 1 g za intramuskularnu primjenu i ampula fosfomicina dinatrija od 1 g i 4 g za intravensku primjenu.

Peroralni oblik fosfomicina koristi se za liječenje nekompliciranih i kompliciranih infekcija urinarnog trakta. Testiranje *in vitro* osjetljivosti urinarnih izolata na fosfomicin rutinski se ne provodi, ali je potrebno ako nakon liječenja fosfomicinom dođe do ponovne pojave ili perzistencije bakteriurije, jer tijekom liječenja može doći do razvoja rezistencije.<sup>2</sup>

Za liječenje nekompliciranih infekcija donjeg urinarnog trakta uobičajeno se (prema sažetku opisa svojstava lijeka) koristi jednokratna doza od 3 g. U zemljama u kojima je dostupan, fosfomicin se u smjernicama za empirijsko liječenje nekompliciranog cistitisa često navodi kao jedna od prvih linija terapije.<sup>67</sup> Prema međunarodnim smjernicama za liječenje akutnog nekompliciranog cistitisa i pijelonefritisa u žena fosfomicin se u jednokratnoj peroralnoj dozi od 3 g preporuča uz nitrofurantoin i kotrimoksazol kao prva linija terapije. Glavni razlozi su jednostavnost primjene, izrazito niska stopa rezistencije i mala mogućnost kolateralne štete (razvoja rezistencije na druge antibiotike).<sup>68</sup> U istraživanju u kojem je primarni cilj bio utvrditi utjecaj primjene fosfomicina i ciprofloksacina na sastav

fekalne flore utvrđena je pojava ciprofloksacin rezistentnih sojeva rektalne *E. coli* 10-ak dana nakon završetka primjene antibiotika. Za razliku od toga, kod bolesnika koji su primili fosfomicin svi su testirani rektalni sojevi *E. coli* i dalje bili osjetljivi na fosfomicin. U tom smislu fosfomicin za razliku od kinolona i cefalosporina ne potiče selekciju rezistentnih bakterijskih sojeva.<sup>69</sup> Za razliku od fosfomicina, primjena kinolona predstavlja rizik za stjecanje ESBL fenotipa.<sup>29</sup> Smatra se da ograničavanje propisivanja kinolona za liječenje infekcija urinarnoga trakta može značajno doprinjeti smanjenju rezistencije na kinolone.<sup>69</sup> Nažalost, u nedavno provedenom istraživanju u Francuskoj utvrđeno je da liječnici obiteljske medicine slijede preporuke smjernica za liječenje nekompliciranih infekcija urinarnog trakta u samo 20% slučajeva. U preostalih 80% slučajeva greška u liječenju sastojala se u propisivanju pogrešnog antibiotika ili pogrešne doze i/ili trajanja liječenja ispravnim antibiotikom. U više je od 60% slučajeva propisan kinolon, koji se ne preporuča kao prva linija liječenja, a u manje od 10% slučajeva je propisan fosfomicin.<sup>70</sup>

Nakon aplikacije jednokratne doze fosfomicina, u urinu se postižu visoke koncentracije lijeka. Uzimajući minimalnu koncentraciju fosfomicina u urinu od 128 mcg/ml kao onu koja pokazuje aktivnost prema većini urinarnih patogena, može se očekivati inhibitorni učinak fosfomicina kroz 48 h nakon aplikacije jednokratne peroralne doze od 3 grama.<sup>71</sup> Također, u svrhu produžavanja izloženosti patogena fosfomicinu predlaže se korištenje režima terapije od 2 puta po 3 g s razmakom doziranja od 72 sata, čime se postiže urinarna koncentracija fosfomicina veća od 16 mg/l (kritična koncentracija osjetljivosti za *E. coli*) kroz 161 h, odnosno otprilike 7 dana.<sup>72</sup>

U velikom je nekomparativnom multicentričnom kliničkom ispitivanju provedenom u Italiji promatran učinak jedne doze fosfomicina u liječenju infekcija urinarnog trakta kod 315 žena i 72 muškarca. Od ukupno 387 bolesnika 274 je imalo akutnu, a 113 je imalo rekurentnu infekciju urinarnog trakta. Osam do 9 dana nakon terapije je 88.9% bolesnika imalo potpunu rezoluciju simptoma/znakova urinarnog infekta, a preostalih 11.1% imalo je smanjenje intenziteta simptoma. Kod čak 91.7% bolesnika došlo je do bakteriološke eradikacije. Udio eradikacije iznosio je 94.9% kod *E. coli* (izolat u 76.7% slučajeva), 89.6% kod *K. pneumoniae* (7.5% izolata), 77.7% kod *P. mirabilis*, 94.1% kod *C. freundii*, 80% kod *E. faecalis* i 100% kod *S. saprophyticusa*.<sup>73</sup>

U više je kliničkih istraživanja fosfomicin uspoređivan s drugim antibioticima za liječenje nekompliciranih infekcija urinarnog trakta. Fosfomicin se u liječenju nekompliciranih infekcija urinarnog trakta jednom dozom pokazao jednako učinkovit (u smislu bakteriološkog i kliničkog odgovora) kao i nitrofurantoin primijenjen kroz 7 dana (u ukupno 14 doza). Bakteriološki odgovor definiran je kao  $<10^4$  CFU/ml u kontrolnoj urinokulturi, a klinički odgovor kao potpuni prestanak (izlječenje) ili smanjenje tegoba (poboljšanje). Radilo se o dvostruko slijepom randomiziranom kliničkom ispitivanju provedenom na 749 ambulantnih pacijentica (375 je liječeno

fosfomicinom, a 374 nitrofurantoinom). Mikrobiološko izlječenje ( $<10^4$  CFU/ml uropatogena u kontrolnoj urinokulturi) postignuto je nakon 5-11 dana od primjene zadnje doze lijeka (placeba u slučaju fosfomicina) kod 146/168 bolesnica (86.9%) liječenih fosfomicinom i kod 127/157 bolesnica (80.9%) liječenih nitrofurantoinom. Razlika u stopi nuspojava također nije bila statistički niti klinički značajna te je iznosila 5.3% za fosfomicin i 5.6% za nitrofurantoin.<sup>74</sup>

U istraživanju koje su proveli Crocchiolo i suradnici fosfomicin se u jednokratnoj dozi od 3 g u liječenju nekomplikiranih infekcija urinarnog trakta pokazao uspješnijim od kotrimoksazola (primijenjenim 2 puta dnevno kroz 3 dana) u smislu veće stope bakteriološkog izlječenja, ali navedeno nije bilo statistički značajno. Radilo se o malom otvorenom randomiziranom kliničkom ispitivanju u kojem je bakteriološko izlječenje postignuto kod 17/19 bolesnica (89%) liječenih fosfomicinom i kod 13/17 (76%) bolesnica liječenih kotrimoksazolom.<sup>75</sup>

U dvostruko slijepom randomiziranom kliničkom ispitivanju usporedbe jednokratne doze fosfomicina od 3 g i ciprofloksacina primijenjenog kroz 3 dana (u dozi od 2x500 mg dnevno) nije bilo razlike u uspješnosti u smislu kliničkog izlječenja koje je postignuto kod 48/50 bolesnica (96%) liječenih fosfomicinom i kod 47/50 bolesnica (94%) liječenih ciprofloksacinom. Uspjeh terapije procjenjivan je nakon 10-ak dana od završetka liječenja.<sup>76</sup>

Fosfomicin u jednokratnoj peroralnoj dozi od 3 g se u 3 otvorena randomizirana klinička ispitivanja pokazao jednako učinkovit kao norfloksacin 400 mg 2 puta dnevno kroz 3, 5 odnosno 7 dana u liječenju nekomplikiranih infekcija urinarnog trakta.<sup>77-79</sup>

U metaanalizi 27 kliničkih ispitivanja učinkovitosti fosfomicina i antibiotika komparatora u liječenju nekomplikiranih infekcija urinarnog trakta, fosfomicin se pokazao podjednako učinkovit kao drugi ispitivani antibiotici (kinoloni, kotrimoksazol, amikacin i netilmicin, cefaleksin, amoksicilin, amoksicilin s klavulanskom kiselinom, nitrofurantoin) u smislu stope kliničkog izlječenja, mikrobiološkog relapsa i mikrobiološke reinfekcije. Autori zaključuju da je fosfomicin u eri vanbolničkih visokih stopa rezistencije na antibiotike vrijedna alternativna terapija za liječenje cistitisa u žena (uključujući trudnice), osoba starije životne dobi i djece.<sup>80</sup>

Konačno, valja istaknuti važnost razlikovanja asimptomatske bakteriurije od infekcije urinarnog trakta, pogotovo u populaciji osoba starije životne dobi i osoba s trajnim urinarnim kateterom, kako bi se izbjegla nekritička primjena fosfomicina.<sup>56</sup>

Fosfomicin se (kao lijek kategorije B u trudnoći) može upotrebljavati u liječenju asimptomatske bakteriurije i simptomatske infekcije urinarnog trakta u trudnoći. U ovoj je indikaciji jednokratna primjena lijeka vrlo povoljna, zbog minimalne ekspozicije fetusa. Navedena indikacija je klinički važna zbog značajnog rizika od prelaska asimptomatske bakteriurije odnosno infekcije donjeg urinarnog trakta u pijelonefritis,

a moguća je komplikacija i prijevremeni porod. Podložnost razvoju pijelonefritisa u trudnoći nastaje zbog mehaničkih promjena (pritisak uterusa i fetusa na mokraćni mjehur i uretere) koje povećavaju mogućnost staze i vezikoureteralnog refluksa (slabiji tonus glatkog mišićja uretera uslijed hormonskih promjena) u trudnoći te općeg stanja imunosupresije trudnica. Zbog navedenih se razloga kod trudnica preporuča redoviti probir i liječenje asimptomatske bakteriurije.<sup>81</sup> U pregledu Reevesa fosfomicin se u jednokratnoj peroralnoj dozi pokazao podjednako učinkovit kao drugi uspoređivani antibiotici poput nitrofurantoina i amoksicilina. Stope izlječenja su za fosfomicin iznosile između 77 i 94%, a za druge antibiotike između 68 i 94%.<sup>82</sup> U kliničkom ispitivanju usporedbe učinkovitosti bakteriološke eradikacije kod asimptomatske bakteriurije nije bilo statistički značajne razlike između primjene jednokratne doze fosfomicina trometamola i 250 mg cefuroksim aksetila dva puta dnevno kroz 5 dana. Stope bakteriološke eradikacije iznosile su 93.2% (grupa liječena fosfomicinom) i 95.0% (grupa liječena cefuroksim aksetilom).<sup>83</sup> Kad je u istoj indikaciji vršena usporedba jedne doze fosfomicina sa sedmodnevnom terapijom koamoksiklavom (u dozi od 625 mg svakih 8 h), do bakteriološke eradikacije je uz fosfomicin došlo u 83.0% slučajeva, a u koamoksiklav u 80.4% slučajeva. Bitno je naglasiti da je nesuradljivost bila prisutna kod 8.9% bolesnica liječenih koamoksiklavom dok, razumljivo, nije bilo slučajeva nesuradljivosti kod onih liječenih fosfomicinom. Navedeno, te činjenica da je uz koamoksiklav u ovom istraživanju bilo značajno više nuspojava nego uz fosfomicin (19.6% naspram 1.9%) upućuje na to da je fosfomicin prikladnija terapija za asimptomatsku bakteriuriju u trudnoći od koamoksiklava.<sup>84</sup> Učinkovitost terapije infekcija urinarnog trakta fosfomicinom u trudnoći uspoređivana je i s trodnevnom terapijom ceftibutenom i petodnevnom terapijom cefuroksim aksetilom te nije bilo značajne razlike u stopama postignutog bakteriološkog izlječenja.<sup>85, 86</sup>

Zbirno se za primjenu fosfomicina u jednokratnoj dozi od 3 g mogu istaknuti sljedeće klinički važne činjenice:

1. fosfomicin *in vitro* pokazuje dobru djelotvornost protiv svih najčešćih uropatogena
2. stope *in vitro* rezistencije su kontinuirano niske unatoč upotrebi lijeka kroz više desetljeća
3. nakon primjene jednokratne peroralne doze od 3 g u urinu se postižu visoke koncentracije lijeka kojima se postiže brzi baktericidni učinak
4. primjena jednokratne doze od 3 g učinkovita je u terapiji nekompliciranih infekcija urinarnog trakta, asimptomatske bakteriurije u trudnica i infekcija donjeg urinarnog trakta u trudnica
5. fosfomicin se uglavnom dobro podnosi, a najčešće nuspojave su gastrointestinalne te su prolaznog karaktera

6. primjena fosfomicina u jednokratnoj peroralnoj dozi od 3 g ima potencijal smanjivanja troškova u zdravstvenom sustavu i ograničavanja razvoja rezistencije na antibiotike

Fosfomicin se uspješno upotrebljava u profilaksi vrućice i bakteriurije u bolesnika s planiranom transuretralnom resekcijom prostate. Kad se u ovoj indikaciji primjenjivao u 2 doze (jedna doza od 3 g 3 h prije operativnog zahvata i druga doza 24 h nakon zahvata), incidencija simptomatskih infekcija iznosila je 2%, dok je u bolesnika koji su primili profilaksu amoksicilinom ili kotrimoksazolom iznosila nešto više od 8%.<sup>87</sup> Monuril, pripravak fosfomicina koji je korišten u ovom kliničkom ispitivanju, odobren je za profilaksu dijagnostičkih i kirurških transuretralnih postupaka.

Fosfomicin se može primjenjivati i za liječenje kompliciranih infekcija urinarnog trakta, uključujući i one uzrokovane multirezistentnim uzročnicima, kao što su ESBL bakterijski sojevi i VRE rezistentan na nitrofurantoin i tetracikline, iako je klinička literatura o toj tematici oskudna. Dok se za liječenje nekompliciranih infekcija urinarnog trakta preporuča primjena jedne doze fosfomicina od 3 g neovisno o bubrežnoj funkciji, shema doziranja varira ovisno o klirensu kreatinina kod liječenja kompliciranih infekcija urinarnog trakta. Trajanje liječenja varira od 3 pojedinačne doze (kroz 5 do 7 dana), do 3 tjedna. Lijek se u pravilu primjenjuje svaki drugi dan, ali ako je klirens kreatinina između 10 i 50 ml/min, fosfomicin se dozira svaki treći dan.<sup>2</sup> Prema sažetku opisa svojstava lijeka, fosfomicin je kontraindiciran uz klirens kreatinina manji od 10 ml/min.<sup>53</sup> U nekim radovima prikazanima u tekstu niže, za liječenje kompliciranih infekcija urinarnog trakta koristio se režim doziranja svaki drugi dan kroz 5 dana (3 doze ukupno).<sup>88, 89</sup>

Zbirno se za prolongiranu primjenu fosfomicina u više pojedinačnih doza od 3 g mogu istaknuti sljedeće klinički važne činjenice:

1. fosfomicin *in vitro* pokazuje dobru djelotvornost protiv svih najčešćih uropatogena, uključujući i multirezistentne patogene poput ESBL sojeva (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Citrobactera*, *Enterobactera*...), VRE sojeva (*E. faecium*, *E. faecalis*), MRSA-e; ne posjeduje djelotvornost prema *Acinetobacter baumannii*
2. stope *in vitro* rezistencije su niske uključujući i multirezistentne uropatogene, s iznimkom *K. pneumoniae* ESBL (u nekim istraživanjima)
3. nakon primjene ponavljanih peroralnih doza od 3 g u intervalima od 2 ili 3 dana (ovisno o stupnju bubrežne funkcije) s obzirom na farmakokinetiku lijeka mogu se očekivati koncentracije lijeka u urinu veće od MIK-a kroz više od 50% intervala doziranja

4. klinička iskustva primjene ponavljanih peroralnih doza od 3 g u intervalima od 2 ili 3 dana za liječenje kompliciranih infekcija urinarnog trakta su ograničena, ali početni rezultati su ohrabrujući, gledano u smislu stope mikrobiološkog i kliničkog izlječenja
5. fosfomicin se uslijed ponavljane peroralne primjene uglavnom dobro podnosi, a stopa nuspojava prema dosadašnjim saznanjima nije bitno veća nego kod jednokratne primjene
6. primjena ponavljanih doza fosfomicina u liječenju kompliciranih infekcija urinarnog trakta uzrokovanih multirezistentnim uzročnicima ima potencijal smanjivanja troškova u zdravstvenom sustavu i ograničavanja razvoja rezistencije na antibiotike

Liječenje kompliciranih infekcija urinarnog trakta fosfomicinom provodi se u više pojedinačnih doza, a dostupan je oskudan broj radova vezanih uz terapiju kompliciranih infekcija uzrokovanih ESBL bakterijskim sojevima (vidi odjeljak 1.14.) i onih uzrokovanih VRE-om. Shrestha i suradnici opisali su prikaz slučaja uspješnog izlječenja bolesnika s rekurentnom kompliciranom infekcijom urinarnog trakta uzrokovanom VRE-om. Fosfomicinom je primjenjivan svaki 3 dan kroz ukupno 3 tjedna (7 doza fosfomicina). Radilo se o bolesniku sa stanjem nakon transuretralne prostatektomije, višestrukim komorbiditetima i ponavljanim antibiotskim terapijama zbog infekcije urinarnog trakta uzrokovane VRE-om.<sup>90</sup>

Iako su podaci o primjeni fosfomicina za liječenje prostatitisa oskudni, preporuča se primjena fosfomicina trometamola u dozi od 3 g svaki drugi ili treći dan kroz 3 tjedna. Prodiranje fosfomicina u tkivo prostate je dokazano.<sup>41, 53</sup>

Fosfomicin se ne preporuča za liječenje akutnog pijelonefritisa zbog suboptimalnih koncentracija lijeka u serumu i tkivu bubrega nakon peroralnog doziranja.<sup>68</sup> U radu Odea i suradnika čak je i i.v. primjena fosfomicina (2 x 8 g i.v.) rezultirala suboptimalnom stopom izlječenja akutnog pijelonefritisa od 44%, a vršne koncentracije fosfomicina u serumu i tkivu bubrega bile su značajno niže od onih u urinu.<sup>91</sup>

Fosfomicin se može primjenjivati za profilaksu rekurentnih infekcija urinarnog trakta. Rudenko i Dorofeyev su 2005. godine proveli kliničko ispitivanje na populaciji od 317 žena s rekurentnim cistitisom. Radilo se o dvostruko slijepom randomiziranom prospektivnom placebo kontroliranom kliničkom ispitivanju u kojem je eksperimentalna skupina primala fosfomicin trometamol u dozi od 3 g svakih 10 dana kroz 6 mjeseci, dok je kontrolna skupina primala placebo. Praćenje je trajalo godinu dana, a samo je 15 od 317 bolesnica „ispalo“ tijekom kliničkog ispitivanja. U grupi koja je primala fosfomicin prosječan broj infekcija urinarnog trakta po bolesnici/godini iznosio je 0.14, a u grupi koja je primala placebo 2.97, što je bilo statistički značajno. Fosfomicin se kroz period od 6 mjeseci dobro podnosio.<sup>92</sup>



Drugo je istraživanje vezano za profilaksu rekurentnih infekcija urinarnog trakta fosfomicinom provedeno u skupini od 50 bolesnica s dijabetesom tipa 2 i rekurentnim infekcijama urinarnog trakta. Jedna je skupina primala fosfomicin trometamol (jednu dozu od 3 g svakih mjesec dana), a druga nitrofurantoin (kapsule od 100 mg 2xdnevno kroz 7 dana i potom jednu kapsulu dnevno do kraja studije). Dvadeset i pet bolesnica primalo je profilaktički fosfomicin odnosno nitrofurantoin. Na kraju praćenja koje je trajalo 6 mjeseci 96% bolesnica u svakoj grupi nije imalo znakove infekcije urinarnog trakta. Samo je jedna bolesnica (koja je primala nitrofurantoin) imala nuspojavu vezanu uz antibiotsku profilaksu (vrtoglavica).<sup>93</sup>

Klinička primjena fosfomicina nije ograničena na infekcije urinarnog trakta. U preglednom članku Falagas i suradnici detaljno su evaluirali rezultate 62 publikacije kliničke upotrebe fosfomicina van uobičajene primjene u liječenju urinarnih infekcija i infekcija gastrointestinalnog trakta. Naglašavaju učinkovitost primjene fosfomicina u infekcijama raznih sijela, uzrokovanih bilo gram pozitivnim i gram negativnim uzročnicima, uključujući pneumoniju i druge respiratorne infekcije, osteomijelitis, meningitis, infekcije uha, grla i nosa, opstetričke i ginekološke infekcije, artritis, septikemiju, peritonitis, cervikalni limfadenitis, infekcije oka, infekcije dijabetičkog stopala itd. Izlječenje je postignuto kod 81,1% pacijenata. Fosfomicin je u analiziranim studijama primjenjivao intravenski, peroralno ili intramuskularno.<sup>94</sup> Osnova za primjenu fosfomicina u navedenim, vrlo različitim kliničkim indikacijama proizlazi iz brojnih *in vitro* istraživanja koja ukazuju na široki antimikrobni spektar fosfomicina te iz brojnih istraživanja kojima je dokazano prodiranje fosfomicina u klinički relevantnim koncentracijama u ekstracelularne odjeljke različitih tkiva poput pluća, likvora, oka, kosti, mišićja, žučnog mjehura, ascitesa, apscesa, endokarda, miokarda itd. Pod klinički relevantnim koncentracijama podrazumijevaju se koncentracije fosfomicina u tkivu značajno veće od MK-a mikroorganizama koji su najčešći patogeni za određenu vrstu infekcije. Navedeno je na primjer dokazano nakon intravenske primjene fosfomicina kod infekcije dijabetičkog stopala<sup>95</sup> i osteomijelitisa<sup>96</sup>. Nadalje, nakon intravenske primjene 8 g fosfomicina septičnim bolesnicima, fosfomicin u plazmi i intersticiju postiže veće koncentracije od MK-a za *S. pyogenes*, *S. aureus* i *Ps. aeruginosa*.<sup>97</sup> Zbog svoje izrazito male molekularne mase i zanemarivog vezanja za proteine plazme fosfomicin, za razliku od većine drugih antibiotika postiže značajne koncentracije u cerebrospinalnom likvoru (nakon i.v. primjene), pogotovo kod upale meningealnih ovojnica.<sup>98</sup> Penetracija fosfomicina u likvor iznosi oko 25%.<sup>99</sup> Kliničke primjene fosfomicina dinatrija u infekcijama središnjeg živčanog sustava obuhvaćaju meningitis, s kateterom udruženi bakterijski ventrikulitis i cerebralni apsces. Slično vrijedi i za infekcije oka, gdje su koncentracije fosfomicina koje se postižu u očnoj vodici, pogotovo u slučaju upale, adekvatne za eliminaciju najčešćih patogena.<sup>100</sup> Fosfomicin dobro prodire u pluća i plućne apscese te se u kombinaciji s cefalosporinom pokazao kao učinkovita terapija za pneumoniju i plućne apscese u bolesnika s prethodno neuspjelim antibiotskom terapijom.<sup>101</sup> Zbog odličnog

prodiranja u tkivo srčanih zalistaka i miokarda, fosfomicin se može koristiti u profilaksi i liječenju endokarditisa u bolesnika preosjetljivih na beta laktamske antibiotike.<sup>102, 103</sup>

Zaključno se može reći da atraktivan režim jednokratnog peroralnog doziranja fosfomicina, široki spektar djelotvornosti dokazan *in vitro* i *in vivo* te minimalni potencijal izazivanja antibiotske rezistencije čine fosfomicin klinčki važnim antibiotikom za liječenje nekompliciranih, ali (u ponavljanim dozama) i kompliciranih infekcija urinarnog trakta. Na temelju raspoloživih dokaza, može se reći da je fosfomicin u jednokratnoj dozi od 3 g podjednako učinkovit kao najčešće korišteni antibiotici za liječenje nekompliciranih infekcija urinarnog trakta.

## 1.10. Nuspojave fosfomicina

Fosfomicin se dobro podnosi, ima dobar sigurnosni profil te malo utječe na floru gastrointestinalnog trakta tako da je rizik od *Cl. difficile* dijareje malen. U postmarketinškoj studiji s 35,481 bolesnikom provedenoj u Japanu, u šestogodišnjem je periodu prijavljen samo jedan slučaj *Cl. difficile* dijareje. Navedeno se odnosilo na peroralni pripravak fosfomicina.<sup>104</sup> Najčešće nuspojave su mučnina, proljev, glavobolja, vrtoglavica, osjećaj opće slabosti i vulvovaginitis. Navedene nuspojave javljaju se s učestalošću između 1 i 10%.<sup>36</sup> U velikom nekontroliranom kliničkom ispitivanju jednokratne doze fosfomicina za liječenje nekomplikiranih infekcija urinarnog trakta u kojem je lijek primilo 389 osoba, nuspojave je imalo 4.9% ispitanika. Najčešće su bile proljev (3.1%), mučnina (1.3%) i povraćanje (0.5%).<sup>73</sup> Fosfomicin dobro podnose djeca i novorođenčad, čak i uslijed višemjesečne upotrebe.<sup>105</sup> Iako je poznato da fosfomicin prolazi placentalnu barijeru, može se upotrebljavati u trudnoći (kategorija B u trudnoći, prema "FDA" klasifikaciji). Ispitivanja fosfomicina trometamola na životinjama nisu pokazala štetan utjecaj na fetus. Do fetalne je toksičnosti došlo pri ispitivanju preparata fosfomicin kalcija i fosfomicin natrija kod štakora, ali tek pri dozama lijeka koje su aproksimativno 25 puta veće od terapijskih.<sup>53</sup> Fosfomicin se u terapiji asimptomatske bakteriurije u trudnoći podnosio značajno bolje od koamoksiklava (u sedmodnevnoj terapiji). Nuspojave je uz fosfomicin (u jednokratnoj dozi) imalo 1.9% trudnica, a uz koamoksiklav 19.6%.<sup>84</sup> Zaključno se može reći da se fosfomicin dobro podnosi u trudnoći. Najčešća nuspojava kod trudnica je blaga prolazna mučnina.<sup>85</sup>

## 1.11. Rezistencija na fosfomicin

Unatoč desetljećima kliničke primjene, rezistencija *E. coli* na fosfomicin je širom svijeta izrazito niska i iznosi oko 1-3%.<sup>106</sup> Navedeno se tumači brzim bakterioidnim učinkom fosfomicina zahvaljujući ostvarivanju visoke i postojane koncentracije u urinu, čime ne preostaje dovoljno vremena za selekciju mutiranih sojeva. Niskoj stopi rezistencije doprinosi i to da se lijek uobičajeno primjenjuje u jednokratnoj dozi, i to za nekomplikirane infekcije urinarnog trakta, a ne i za infekcije drugih sijela, te činjenica da životinjska hrana ne sadrži fosfomicin (a sadrži npr. fluorokinolone i kotrimoksazol). Također, rezistencija se najčešće stječe kromosomskim mutacijama, a one se relativno teško šire (u usporedbi s rezistencijom posredovanom plazmidima).<sup>107</sup> Konačno, smatra se da stjecanje rezistencije na fosfomicin ima svoju biološku cijenu, odnosno da su rezistentni patogeni manje sposobni za preživljavanje od osjetljivih. Na taj način bi rezistentni patogeni *E. coli* u odsustvu antibiotika u normalnoj intestinalnoj flori bili spontano potiskivani od sojeva *E. coli* osjetljivih na fosfomicin.<sup>108</sup> Visoka stopa mutacija koja se opaža *in vitro* nije u skladu s rjeđim opažanjem mutiranih sojeva *in vivo*, što dodatno podupire zaključak prehodno spomenutog istraživanja. Činjenica je da mutacije koje dovode do rezistencije na fosfomicin najčešće zahvaćaju transportne ugljikohidratne sustave (vidi niže) pa je jedno objašnjenje za spomenutu biološku cijenu stjecanja otpornosti na fosfomicin oštećenje metabolizma ugljikohidrata. Nadalje, mutacije koje dovode do smanjenja koncentracije cAMP-a i na taj način smanjuju ekspresiju ugljikohidratnih transportera također remete prijanjanje bakterija za epitel, zbog smanjenja biosinteze pilusa.<sup>109</sup> Ostaje otvoreno pitanje bi li rezistencija na fosfomicin bila i dalje izrazito niska kad bi se češće upotrebljavao u više doza, kao prolongirana terapija. U Španjolskoj kao zemlji s najdužom tradicijom primjene fosfomicina Oteo i suradnici su ukazali na povezanost između porasta upotrebe fosfomicina u populaciji i porasta rezistencije ESBL sojeva *E. coli* na fosfomicin. Rezistencija na fosfomicin je u Španjolskoj u 4 godine porasla s 4.4% na 11.4%, paralelno s porastom potrošnje fosfomicina od 340% u promatranih 9 godina.<sup>110</sup>

Mehanizmi bakterijske rezistencije na fosfomicin obuhvaćaju:

1. Smanjenje aktivnog unosa fosfomicina u bakteriju zbog mutacija ili smanjene ekspresije transportera odgovornih za prijenos fosfomicina (glicerol-3-fosfat transporter i heksoza fosfat transporter).<sup>109</sup>
2. Mutacije koje dovode do promjene strukture enzima enolpiruvil transferaze (mete djelovanja fosfomicina).<sup>111</sup>
3. Ekspresija enzima koji inaktiviraju fosfomicin (glutation S-transferaza, L-cistein tio transferaza, epoksid hidrolaza).<sup>112</sup> Dodavanjem glutaciona na fosfomicin djelovanjem konstitutivno aktivne glutacion S-transferaze (kodirane FosA genom) dolazi do

inaktivacije fosfomicina. U navedenoj enzimskoj reakciji formira se kovalentna veza između fosfomicina i tiolne skupine glutationa. FosA gen se između bakterija prenosi plazmidima i prvi put je opisan kod *Serratia marcescens* 1980. godine.<sup>113</sup> Navedeni mehanizam rezistencije opisan je kod gram negativnih bakterija uključujući *K. pneumoniae* i *E. coli*.<sup>114</sup> FosA gen ne nalazi se u gram pozitivnih bakterija. Neki sojevi *S. aureusa* i *S. epidermidisa* nose FosB gen kao mehanizam rezistencije na fosfomicin, ali mehanizam rezistencije u ovom slučaju nije do kraja utvrđen.<sup>115</sup>

4. Ekspresija fosfomicin kinaza koje dovode do fosforilacije fosfomicina, čime dolazi do njegove inaktivacije.<sup>112</sup>

Od četiri spomenuta mehanizma rezistencije najčešći je kromosomski tip rezistencije uzrokovan mutacijom ili smanjenom ekspresijom gena za heksoza fosfat transporter. U radu Arca i suradnika od 60 je izolata rezistentnih na fosfomicin samo njih 5 imalo FosA ili FosB gen kao mehanizam rezistencije dok je u preostalih 55 izolata razlog rezistenciji bila promjena heksoza fosfat transportnog sustava.<sup>106</sup>

Važno je napomenuti da u pravilu nema ukrižene rezistencije fosfomicina s drugim antibioticima te se pretpostavlja da je navedeno posljedica činjenice da se fosfomicin strukturno i prema mehanizmu djelovanja razlikuje od svih drugih antibiotika.<sup>116</sup> U istraživanju u kojem je analizirana *in vitro* osjetljivost 79 izolata *E. coli* rezistentnih na kinolone, svi su izolati bili osjetljivi na fosfomicin, dok je osjetljivost na druge ispitivane antibiotike bila niža (primjerice netilmicin 93.7%, nitrofurantoin 87.3%, kotrimoksazol 59.1%, amoksicilin 36.7%).<sup>117</sup> Nadalje, u jednom su radu samo 2 od 63 (3.2%) kinolon-rezistentnih ESBL izolata *E. coli in vitro* bila rezistentna na fosfomicin.<sup>118</sup> U drugom su istraživanju svi izolati *E. coli* koji su bili rezistentni na kotrimoksazol (85 izolata) bili osjetljivi na fosfomicin.<sup>119</sup>

Jedna od najvećih mana fosfomicina koja se navodi u literaturi je stjecanje rezistencije na fosfomicin tijekom terapije. Navedeno prvenstveno vrijedi za parenteralni oblik fosfomicina, vjerojatno zbog toga što se u slučaju primjene peroralnog oblika u urinu postižu vrlo visoke koncentracije lijeka koje dovode do vrlo brzog baktericidnog učinka. Također, za infekcije urinarnog trakta lijek se koristi uglavnom u jednokratnoj dozi. Zbog bojazni od stjecanja rezistencije tijekom terapije se parenteralni oblik fosfomicina, koji se sporadično koristi u mnogim kliničkim indikacijama (vidi odjeljak 1.9.), najčešće koristi u kombinaciji s drugim antibioticima. Ilustrativan je primjer stjecanja rezistencije tijekom terapije donosi rad s prikazom triju slučajeva bolesnika u teškoj sepsi uzrokovanoj s *K. pneumoniae* koja proizvodi karbapenemazu (KPC-Kp). U sva tri slučaja izolati KPC-Kp-a bili su inicijalno dokazano *in vitro* osjetljivi na fosfomicin, te je on u i.v. obliku primjenjivan u kombinacijama s drugim antibioticima (meropenem, kolistin, gentamicin). Tijekom nekoliko dana terapije došlo je do razvoja rezistencije na fosfomicin, što je dokazano ponovnim određivanjem MIK-a. U ovom se istraživanju sudeći prema rezultatima primjene elektroforeze u pulsirajućem polju (od engl. Pulsed-field Electrophoresis)

najvjerojatnije radilo o sojevima KPC-Kp-a koji su mutacijama stekli rezistenciju na fosfomicin tijekom terapije, a ne o novo stečenim ili od početka prisutnim sojevima.<sup>111</sup>

Rezistencija je vrlo rijetka i kod ESBL izolata *E. coli*. U radu koji su objavili Pullukcu i sur. samo je 3.4% od ukupno 344 *E. coli* ESBL izolata bilo rezistentno na fosfomicin.<sup>120</sup> Niske stope rezistencije su postojane unatoč upotrebi fosfomicina kroz više desetljeća, što vrijedi za *E. coli*, *P. mirabilis*, *Ps. aeruginosa* i *E. faecalis*. Prema navedenom obilježju fosfomicin je sličan nitrofurantoinu. Potencijalna iznimka je *K. pneumoniae* kod koje kroz vrijeme može doći do pada udjela osjetljivih sojeva.<sup>121</sup>

## *1.12. Interakcije fosfomicina s drugim lijekovima*

Jednostavni metabolizam i izlučivanje fosfomicina te jedinstveni mehanizam djelovanja fosfomicina imaju za posljedicu izostanak (poznatih) interakcija fosfomicina s drugim lijekovima. Iznimka je metoklopramid koji smanjuje biodostupnost fosfomicina. Navedena kombinacija se stoga ne preporuča, što je navedeno i u sažetku opisa svojstava lijeka.<sup>53</sup> Primjena cimetidina ne utječe na farmakokinetiku fosfomicina.<sup>53</sup> Interakcije fosfomicina s drugim lijekovima u literaturi se ne navode.

### 1.13. Istraživanja in vitro osjetljivosti ESBL sojeva na fosfomicin

U istraživanju Falagasa i suradnika izolirana su ukupno 152 multirezistentna urinarna patogena iz roda enterobakterija. Izolati su uključivali *Kl. pneumoniae* (76.3%), *E. coli* (17.1%), *Proteus mirabilis* (4.6%) i druge enterobakterije (2.0%). Ukupno je 92.8% svih izolata bilo osjetljivo na fosfomicin, dok su niže stope osjetljivosti dobivene za druge testirane antibiotike (tigeciklin (92.1%), kolistin (73.0%), imipenem (35.5%), tetraciklin (20.4%), gentamicin (19.7%), trimetoprim/sulfometoksazol (12.5%), ciprofloksacin (10.5%)). Od 34 ESBL izolata 94.1% bio je osjetljiv na fosfomicin.<sup>122</sup>

Maraki i suradnici testirali su na fosfomicin 578 izolata urinarnih patogena. Ukupno je 89,2% izolata bilo osjetljivo na fosfomicin. Sakupljeno je svega 15 ESBL izolata *K. pneumoniae* i 14 ESBL izolata *E. coli* i 100% je in vitro bilo osjetljivo na fosfomicin.<sup>123</sup> U istraživanju Neunera i suradnika, 100% ESBL izolata (svega njih 7) bilo je in vitro osjetljivo na fosfomicin.<sup>124</sup>

Slično, u istraživanju provedenom od Meiera i suradnika 2011. godine od ukupno je 123 ESBL izolata *E. coli* 100% bilo osjetljivo na fosfomicin. Samo je nitrofurantoin imao također visoku stopu osjetljivosti (85%), dok je rezistencija na kinolona i kotrimoksazol bila izrazito visoka (84.8% za ciprofloksacin, 83.9% za norfloksacin i 75.9% za kotrimoksazol). Izolati su bili većinom vanbolnički (66%) te su svi bili urinarni.<sup>125</sup>

U istraživanju Araja i Jibera promatrana je in vitro osjetljivost ESBL i ne-ESBL izolata *E. coli* i *K. pneumoniae* na fosfomicin i druge antibiotike. Od ukupno 374 ESBL *E. coli* izolata, 86% je bilo osjetljivo na fosfomicin, dok je kod izolata *K. pneumoniae* njih 62% bilo osjetljivo. In vitro osjetljivost navedenih izolata na fosfomicin bila je veća u odnosu većinu drugih ispitivanih antibiotika (cefepim, ciprofloksacin, kotrimoksazol, piperacilin s tazobaktamom, gentamicin i tobramicin), dok je bila manja nego kod amikacina i imipenema.<sup>126</sup>

U radu Lee-ja i suradnika istraživana je prevalencija rezistencije na fosfomicin te je također promatrana in vitro osjetljivost ESBL sojeva *E. coli* i *K. pneumoniae*. Od 165 ESBL izolata *E. coli* 92,9% je bilo osjetljivo na fosfomicin, dok je osjetljivost kod 182 izolata *K. pneumoniae* ESBL iznosila 95,2%.<sup>127</sup>

U istraživanju Al Zarounija i suradnika ispitivana je osjetljivost ESBL urinarnih izolata na različite antibiotike, s naglaskom na fosfomicin, nitrofurantoin i tigeciklin. Uzorci su sakupljeni u 7 bolnica kroz 2 godine u Ujedinjenim Arapskim Emiratima. Testirana su ukupno 292 ESBL izolata, te su svi bili *in vitro* osjetljivi na fosfomicin (182 izolata *E. coli*, 149 izolata *K. pneumoniae* i 3 izolata *P. mirabilis*), a također svi su bili osjetljivi i na imipenem i meropenem. Kod drugih ispitivanih antibiotika



(gentamicin, kotrimoksazol, ciprofloksacin) bila je evidentna značajna stopa rezistencije.<sup>128</sup> Univerzalna osjetljivost 220 CTX-M ESBL izolata *E. coli* pronađena je i u istraživanju Ellingtona i suradnika.<sup>129</sup>

U istraživanju provedenom u Tajvanu, također je promatrana *in vitro* osjetljivost urinarnih izolata ESBL sojeva *E. coli* i *K. pneumoniae* na fosfomicin. Sakupljeno je 200 mikrobioloških izolata; 134 izolata ESBL *E. coli* i 66 ESBL izolata *K. pneumoniae*. Izolati *E. coli* bili su osjetljivi na fosfomicin u 95,5% slučajeva, a izolati *K. pneumoniae* u 57,6% slučajeva. Zamijećene su visoke stope rezistencije na druge ispitivane antibiotike poput gentamicina, nitrofurantoina i kotrimoksazola, s većom učestalošću kod onih sojeva koji su pokazivali rezistenciju na ciprofloksacin. U slučaju fosfomicina te vrste ukrižene rezistencije nije bilo. U zaključku se ističe izvrsna aktivnost fosfomicina prema ESBL soju *E. coli*, za razliku od slabije učinkovitosti prema *K. pneumoniae*.<sup>130</sup>

U Španjolskoj je provedeno ispitivanje *in vitro* osjetljivosti ESBL urinarnih izolata *E. coli* na fosfomicin te je provedena analiza povezanosti između upotrebe fosfomicina i pojave rezistencije urinarnih izolata na fosfomicin. Analiziran je ukupno 231 izolat ESBL *E. coli* te je u ukupno 9,1% slučajeva zabilježena rezistencija na fosfomicin. Navedeno predstavlja porast u odnosu na rezistenciju u istoj sredini 4 godine ranije (2005.), kad je rezistentno bilo svega 4,4% izolata. Istovremeno, u navedenom četverogodišnjem periodu upotreba fosfomicina povećala se u Španjolskoj za 340% pa je upravo porast upotrebe fosfomicina najvjerojatnije glavni čimbenik odgovoran za porast rezistencije.<sup>110</sup>

U svjetlu porasta broja ambulantnih infekcija urinarnog trakta uzrokovanih s ESBL *E. coli*, Auer i suradnici su u Austriji testirali *in vitro* osjetljivost ESBL *E. coli* na peroralne antibiotike, kao moguću alternativu ertapenemu. Od 100 ESBL pozitivnih *E. coli* izolata, na fosfomicin je bilo osjetljivo 97%, na nitrofurantoin 94% te na pivmecilinam 85%. Osjetljivost na ertapenem testirana je u 66 izolata te su svi izolati bili osjetljivi, što je u skladu i s podacima u drugim publikacijama. Autori zaključuju da bi fosfomicin, nitrofurantoin i pivmecilinam mogli predstavljati važnu alternativnu peroralnu terapiju u liječenju navedenih infekcija, ako se navedeni rezultati *in vitro* ispitivanja potvrde kliničkim ispitivanjima.<sup>131</sup>

Chislett i suradnici su također testirali *in vitro* osjetljivost ESBL soja *E. coli* na fosfomicin te je od 146 izolata 141 bio osjetljiv. Stopa osjetljivosti ESBL *E. coli* nije se značajno razlikovala od stope osjetljivosti „obične“ *E. coli* na fosfomicin (52 od 57 izolata bilo je osjetljivo). Autori navode kako je fosfomicin potencijalna korisna peroralna terapijska opcija u liječenju multirezistentnih sojeva *E. coli* te su potrebna klinička ispitivanja kojima bi se utvrdio optimalan način primjene fosfomicina (u jednoj ili u dvije odvojene doze).<sup>132</sup>

Prema istraživanju Hutleya i suradnika, od 187 ESBL izolata, njih 95% bilo je *in vitro* osjetljivo na fosfomicin.<sup>133</sup> U istraživanju provedenom u Turskoj sakupljen je

ukupno 771 urinarni izolat *E. coli* (150 ESBL i 621 divljeg tipa). Testirana je osjetljivost na fosfomicin te među „običnim“ izolatima *E. coli* nije bilo rezistencije na fosfomicin, dok je među ESBL izolatima iznosila 2%.<sup>134</sup> Prakash i suradnici ispitali su osjetljivost 57 ESBL izolata *E. coli* na fosfomicin i druge antibiotike. Od navedenih, ukupno je 95,6% bilo osjetljivo na

fosfomicin.<sup>135</sup> Slična proporcija *in vitro* osjetljivosti kod 290 ESBL izolata *E. coli* navodi se i u radu de Cueta i suradnika.<sup>136</sup>

Rezultati *in vitro* istraživanja osjetljivosti ESBL sojeva *E. coli* i *K.pneumoniae* na fosfomicin pregledno su prikazani u Tablici 1.

Falagas i suradnici su 2010. u časopisu Lancet objavili sistemski pregled o liječenju bakterijskih infekcija uzrokovanih multirezistentnim izolatima enterobakterija, uključujući i ESBL producirajuće sojeve. Pregled je uključio 17 istraživanja *in vitro* osjetljivosti bakterijskih izolata na fosfomicin te 4 klinička istraživanja. Od ukupno 5057 kliničkih multirezistentnih izolata enterobakterija, 4448 (88%) se odnosilo na ESBL sojeve. Ukupno je 96.8% ESBL izolata *E. coli* bilo osjetljivo na fosfomicin, dok je 81.3% ESBL izolata *K. pneumoniae* bilo osjetljivo. U uključenim istraživanjima korištena je, prema CLSI kriterijima, granična vrijednost MIK-a od  $\leq 64$  mg/l.<sup>137</sup>

**Tablica 2.** Pregled *in vitro* osjetljivosti urinarnih ESBL izolata u dosadašnjim istraživanjima

<b>Autori</b>	<b>Godina publikacije</b>	<b>Broj urinarnih ESBL izolata</b>	<b>Udio <i>in vitro</i> osjetljivih izolata</b>
Al Zarouni i sur.	2012.	182 ( <i>E. coli</i> ) 149 ( <i>K. pneumoniae</i> )	100% 100%
Araj i Aber	2012.	374 ( <i>E. coli</i> ) 168 ( <i>K. pneumoniae</i> )	86% 62%
Auer i sur.	2010.	100 ( <i>E. coli</i> )	97%
Chislett i sur.	2010.	146 ( <i>E. coli</i> )	96,6%
de Cueto i sur.	2006.	290 ( <i>E. coli</i> )	99,7%
Ellington i sur.	2006.	220 ( <i>E. coli</i> )	100%
Falagas i sur.	2010.	34 ( <i>E. coli</i> i <i>K. pneumoniae</i> )	94,1%
Hosbul i sur.	2009.	150 ( <i>E. coli</i> )	98%
Hutley i sur.	2010.	187 ( <i>E. coli</i> i <i>K. pneumoniae</i> )	95%
Lee i sur.	2012.	165 ( <i>E. coli</i> ) 182 ( <i>K. pneumoniae</i> )	92,9% 95,2%
Liu i sur.	2011.	134 ( <i>E. coli</i> ) 66 ( <i>K. pneumoniae</i> )	95,5% 57,6%
Maraki i sur.	2009.	15	100%
Meier i sur.	2011.	123 ( <i>E. coli</i> )	100%
Neuner i sur.	2012.	7	100%
Oteo i sur.	2010.	231 ( <i>E. coli</i> )	90,9%
Prakash i sur.	2009.	57 ( <i>E. coli</i> )	95,6%

## 1.14. Klinička istraživanja učinkovitosti fosfomicina u liječenju kompliciranih infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL sojevima

Prvo istraživanje kliničke učinkovitosti fosfomicina u liječenju kompliciranih infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL sojevima *E. coli* objavili su 2007. godine Pullucku i suradnici. Istraživanje je provedeno kao retrospektivna studija. Svi bolesnici su imali izoliranu *E. coli* ESBL s  $>10^5$  CFU/ml urina, leukocituriju, dizuriju i/ili polakisuriju i/ili urgenciju te nisu imali vrućicu niti leukocitozu. ESBL detekcija vršena je pomoću testa dvostruke disk sinergije. Svi testirani ESBL izolati *E. coli* (njih ukupno 52) bili su osjetljivi na fosfomicin (i karbapeneme), a rezistentni na ciprofloksacin i kotrimoksazol. Iako se može reći da su svi bolesnici imali kompliciranu infekcija urinarnog trakta, jer su imali izoliran multirezistentni uzročnik, 16 od 52 bolesnika (31%) nisu imali niti jedan komplicirajući čimbenik, dok je među ostalima najčešći komplicirajući čimbenik bilo prisustvo urinarnog katetera. Bolesnici su primali fosfomicin ambulantno u 3 navrata (3 grama fosfomicina svaki drugi dan kroz 6 dana), a 7-9 dana nakon završetka terapije uzeta je kontrolna urinokultura. To je bilo prvo istraživanje u kojem je korištena navedena shema doziranja fosfomicina te je bitno naglasiti kako bolesnici nisu imali nuspojave. Kod od ukupno 52 liječena bolesnika, kliničko je izlječenje (odsustvo tegoba) postignuto kod 94,3%, a mikrobiološko izlječenje (definirano kao sterilna kontrolna urinokultura) kod 78,8%. Ovakva stopa mikrobiološkog izlječenje komparabilna je s rezultatima istraživanja Coxa i suradnika o liječenju kompliciranih infekcija urinarnog trakta kombinacijom imipenema i cilastatina (81% u skupini od 82 bolesnika) te meropenemom (90% u skupini od 95 bolesnika).<sup>138</sup> Među bolesnicima sa i bez komplicirajućih faktora nije bilo statistički značajne razlike u stopama kliničkog i mikrobiološkog izlječenja. Kod bolesnika s mikrobiološkim izlječenjem nije bilo slučajeva relapsa infekcije 28 dana nakon završetka liječenja. Autori zaključuju kako je fosfomicin u produženoj shemi doziranja učinkovita terapija u liječenju kompliciranih infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL sojevima (iako je odobren za liječenje akutnog nekompliciranog cistitisa) i kao takva alternativa karbapenemima, te farmakoekonomski daleko isplativija. Autori zagovaraju primjenu 3 doze fosfomicina u liječenju kompliciranih infekcija urinarnog trakta, s obzirom na činjenicu da je stopa mikrobiološkog izlječenja u ovom istraživanju bila usprkos primjeni 3 doze za oko 15% niža od stope izlječenja nekompliciranog cistitisa primjenom jedne doze fosfomicina.<sup>88, 139</sup>

Senol i suradnici su u opservacijskom prospektivnom ispitivanju uspoređivali učinak fosfomicina i karbapenema (meropenema ili imipenema s cilastatinom) u liječenju kompliciranih infekcija donjeg urinarnog trakta uzrokovanih s ESBL sojem *E. coli*. Terapija fosfomicinom provodila se u obliku 3 peroralne doze lijeka (3 g svaki drugi dan). Liječeno je ukupno 47 bolesnika, 27 fosfomicinom i 20 karbapenemom.

Kliničko i mikrobiološko izlječenje bilo je slično u obje grupe. U grupi liječenoj karbapenemima kliničko je izlječenje postignuto u 19 od 20, a mikrobiološko u 16 od 20 bolesnika. U grupi liječenoj fosfomicinom, kliničko je izlječenje postignuto kod 21 od 27, a mikrobiološko u 16/27 bolesnika. Navedena razlika („u korist“ karbapenema) nije bila statistički značajna. Troškovi liječenja su međutim bili značajno manji u grupi koja je liječena fosfomicinom. Autori ističu da, iako se nije radilo o randomiziranom kliničkom ispitivanju, fosfomicin može biti prikladna, učinkovita i jeftina opcija u liječenju kompliciranih infekcija donjeg urinarnog trakta uzrokovanih s ESBL sojem *E. coli*.<sup>89</sup>

U retrospektivnom multicentričnom istraživanju Rodriguez-Banoa i suradnika provedenom u Španjolskoj uspoređivana je učinkovitost fosfomicina i kombinacije amoksicilina i klavulanske kiseline kod bolesnika s cistitisom uzrokovanim ESBL sojem *E. coli* (pozitivnom kulturom urina i simptomima infekcije donjeg urinarnog trakta). Od 73 bolesnika 37 ih je liječeno kombinacijom amoksicilina i klavulanske kiseline kroz 5-7 dana. Izlječenje je postignuto kod 31 od 37 bolesnika, dakle kod 84%. Kod bolesnika s višim minimalnim inhibitornim koncentracijama (MIK) stopa izlječenja bila je značajno niža pa je tako u grupi s MIK-om od  $\leq 4$   $\mu\text{g/mL}$  iznosila 94%, kod onih s MIK-om od 16  $\mu\text{g/mL}$  75%, a u grupi s MIK-om  $\geq 32$   $\mu\text{g/mL}$  40%. Dvadeset i osam bolesnika liječeno je fosfomicinom u jednokratnoj dozi od 3 g. Dvadeset i šest bolesnika (93%) bilo je izlječeno. Izlječenje je definirano kao odsustvo simptoma cistitisa nakon završene terapije kroz barem 4 tjedna, kroz koja su pacijenti praćeni. Perzistencija simptoma nakon provedenog liječenja ili ponovna pojava simptoma unutar perioda od 4 tjedna nakon završetka liječenja, definirana je kao neuspjeh terapije. Budući da je primarni cilj studije bilo utvrđivanje rizičnih faktora za akviriranje urinarnog ESBL soja *E. coli*, kontrolna urinokultura nije rađena.<sup>140</sup>

Neuner i suradnici 2012. su proveli retrospektivno istraživanje u Klinici u Clevelandu gdje su pregledali medicinsku dokumentaciju 41 hospitaliziranog bolesnika s urinarnim infekcijama uzrokovanim multirezistentnim urinarnim patogenima (ukupno 44 urinarna izolata). Svi pacijenti su bili liječeni fosfomicinom te su bili promatrani mikrobiološki i klinički ishodi. Kod navedenih bolesnika izolirani su sljedeći patogeni: *Kl. pneumoniae* rezistentna na karbapeneme (13 izolata), *Pseudomonas aeruginosa* (8 izolata), vankomicin rezistentni *Enterococcus faecium* (7 izolata), ESBL sojevi *Kl. pneumoniae* i *E. coli* (7 izolata) i drugi (9 izolata). In vitro je ukupno 86% od svih izolata bilo osjetljivo na fosfomicin, dok je od ESBL izolata 100% bilo osjetljivo. Mikrobiološko izlječenje definirano je kao sterilna urinokultura nakon završetka liječenja i/ili odsustvo relapsa (ponovna infekcija urinarnog trakta istim uzročnikom unutar 30 dana od završetka liječenja) ili reinfekcije (ponovna infekcija urinarnog trakta novim uzročnikom unutar 30 dana od završetka liječenja). Mikrobiološko izlječenje postignuto je kod prosječno 59% bolesnika, a među onima s ESBL sojevima kod 71%. Među bolesnicima kod kojih nije bilo postignuto mikrobiološko izlječenje bilo je značajno više onih s transplantiranim bubregom ili ureteralnim stentom. Bolesnici su u prosjeku primili 2,9 doza fosfomicina (1 doza

sadržavala je 3 g fosfomicina). Značajna divergencija između visoke stope in vitro osjetljivosti i neuspjeha mikrobiološkog izlječenja ističe se kod liječenja karbapenem rezistentnog soja *Kl. pneumoniae*. Autori naglašavaju potrebu za dodatnim kliničkim istraživanjima vezanima za liječenje multirezistentnih urinarnih infekcija fosfomicinom.<sup>124</sup>

Rezultati kliničkih istraživanja učinkovitosti fosfomicina u liječenju kompliciranih infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL sojevima *E. coli* i *K.pneumoniae* pregledno su prikazani u Tablici 3.

**Tablica 3.** Pregled rezultata kliničke primjene fosfomicina u terapiji infekcija donjeg urinarnog trakta uzrokovanih ESBL sojevima enterobakterija

<b>Autori</b>	<b>Vrsta ispitivanja</b>	<b>Broj bolesnika</b>	<b>Primijenjena doza fosfomicina</b>	<b>Udio mikrobiološkog izlječenja</b>	<b>Udio kliničkog izlječenja</b>
Neuner i sur.	retrospektivno ispitivanje	7	prosječno 2,9 doza (svaka od 3 g)	71%	nije primjenjivo
Pollukcu i sur.	retrospektivno ispitivanje	52	3 g svaki drugi dan, kroz 6 dana	78,5%	94,3%
Rodríguez-Baño i sur.	prospektivno ispitivanje	28	jedna doza od 3 g	nije primjenjivo	93%
Senol i sur.	opservacijsko prospektivno ispitivanje	27	3 g svaki drugi dan, kroz 6 dana	59%	78%

## 2. HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA

Temeljna hipoteza ovog istraživanja oslanja se na rezultate dosadašnje dvije retrospektivne publikacije vezane za liječenje kompliciranih infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL sojevima *E. coli* i *K. pneumoniae* fosfomicinom. Prema tome se pretpostavlja da je doziranje fosfomicina po shemi 3 g svaki drugi dan kroz 5 dana značajno djelotvornija terapija od fosfomicina u jednokratnoj dozi od 3 g.<sup>88, 89</sup>

Također se, na osnovu dosadašnjih istraživanja pretpostavlja da je fosfomicin klinički učinkovita terapija u liječenju ovih infekcija te kao takva alternativa karbapenemima.<sup>89</sup> Očekuje se da su urinarni ESBL sojevi *E. coli* i *K. pneumoniae* s područja Zagreba u visokom postotku osjetljivi na fosfomicin. Očekivana stopa osjetljivosti *E. coli* ESBL iznosi oko 95%, a *K. pneumoniae* ESBL oko 80%.<sup>137</sup>



### 3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

#### *OPĆI CILJ:*

Dokazati bolju djelotvornost primjene 3 doze fosfomicina u odnosu na primjenu 1 doze. Primarni ishod za ocjenu učinkovitosti terapije je stopa mikrobiološkog izlječenja, a sekundarni ishod stopa kliničkog izlječenja.

#### *SPECIFIČNI CILJEVI:*

1. Ispitati učinkovitost fosfomicina (1 doze i 3 doze) u liječenju infekcija urotrakta uzrokovanih ESBL sojevima *E. coli*/*K. pneumoniae*.
2. Ispitati *in vitro* osjetljivost ESBL sojeva na fosfomicin.
3. Analizirati povezanost između prisutnosti pojedinih komplicirajućih čimbenika i stope mikrobiološkog odnosno kliničkog izlječenja u pojedinim skupinama ispitanika (liječenih jednom odnosno s 3 doze fosfomicina).
4. Provesti farmakoeкономsku analizu odnosa troška i učinkovitosti ("cost effectiveness analysis") liječenja urinarnih infekcija uzrokovanih ESBL sojevima fosfomicinom i usporediti je s analizom odnosa troška i koristi za karbapeneme.

## 4. MATERIJALI, ISPITANICI, METODE I TIJEK ISTRAŽIVANJA

### 4.1. Dokazivanje ESBL produkcije

Produkcija ESBL dokazivana je uobičajenim fenotipskim metodama poput testa dvostruke disk sinergije. Detekcija ESBL temelji se na prikazu rezistencije na oksimino beta laktame poput cefotaksima, ceftazidima, cefepima i ceftriaksona te na sposobnosti inhibitora beta laktamaze (najčešće klavulanske kiseline) da blokira navedenu rezistenciju. Navedeno se pri kultivaciji soja na Mueller-Hinton agaru tipično prikazuje kao fenomen „ključanice“, odnosno kao širenje zone inhibicije rasta prema disku koji sadrži klavulansku kiselinu. Navedeni fenomen je posljedica tzv. disk sinergije. Navedeno prikazuje Slika 4.



**Slika 4.** „Fenomen ključanice“, kod ESBL soja *E. coli*, testiranog u Zavodu za kliničku mikrobiologiju Klinike za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ (uz dopuštenje prof. dr.sc. Arjane Tambić Andrašević)

## 4.2. Prikupljanje sojeva za testiranje *in vitro* osjetljivosti na fosfomicin

Bakterijski urinarni sojevi za *in vitro* testiranje osjetljivosti na fosfomicin prospektivno su prikupljeni u sljedećim laboratorijima: Klinički zavod za kliničku i molekularnu mikrobiologiju KBC-a Zagreb, Laboratorij službe za mikrobiologiju Zavoda za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“, Laboratorij službe za mikrobiologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo, Zavod za kliničku mikrobiologiju Klinike za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“, Zavod za kliničku mikrobiologiju i hospitalne infekcije Kliničke bolnice „Sveti Duh“, Medicinsko-biokemijski laboratorij Breyer. Svi urinarni izolati *E. coli* i *K. pneumoniae* kod kojih je dokazana produkcija ESBL, transportirani su u Klinički zavod za kliničku i molekularnu mikrobiologiju KBC-a Zagreb kako bi se, uz uobičajeno testiranje osjetljivosti na antibiotike, izvršilo dodatno testiranje osjetljivosti na fosfomicin. Testirani su samo oni ESBL urinarni izolati s brojem kolonija u značajnom broju (u pravilu  $>10^5$  CFU/ml), i to samo izolati iz „čiste kulture“, odnosno one u kojoj nije bilo porasta drugih patogena kao što su *Pr. mirabilis*, *Ent. faecalis* itd.. Testiranje je provedeno na taj način da bi se kasnije fosfomicinom tretirala što homogenija skupina bolesnika. Dva bakterijska soja iz jedne kulture urina testirala bi se samo onda ako oba produciraju ESBL (primjerice istovremeni porast u značajnom broju *E. coli* ESBL i *K. pneumoniae* ESBL u uzorku urina kod jednog bolesnika).

### 4.3. Testiranje *in vitro* osjetljivosti na fosfomicin

Testiranje *in vitro* osjetljivosti na fosfomicin vršeno je u Kliničkom zavodu za kliničku i molekularnu mikrobiologiju prema EUCAST (od engl. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) standardima.<sup>141</sup> Minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) fosfomicina određena je metodom agar dilucije, uz dodatak 25 mg/l glukoza-6-fosfata. Riječ je o jednoj odobrenoj metodi za određivanje MIK-a fosfomicina.<sup>142</sup> Kao granična vrijednost MIK-a ("MIC breakpoint") uzeta je koncentracija od 32 mg/l pa je *in vitro* inhibicija rasta bakterijskih kolonija pri koncentracijama  $\leq 32$  mg/l označena kao *in vitro* osjetljivost na fosfomicin. Za razliku od toga, prema CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) standardima, granična vrijednost MIK-a za fosfomicin iznosi 64 mg/l. Nadalje, za razliku od EUCAST standarda koji razlikuju osjetljivost i rezistenciju na fosfomicin, u CLSI standardima se navodi i kategorija intermedijarne osjetljivosti s rasponom od  $>64$  do  $<256$  mg/l.<sup>142</sup> Razrijeđenja za *in vitro* testiranje priređena su u rasponu od 0,25 do 512 mg/l fosfomicina. Inokulumi su pripremljeni kako bi se postiglo  $1 \times 10^4$  kolonija po kapi, a pregled agara vršen je nakon inkubacije od 24 sata pri 37 °C.

#### 4.4. Rekrutacija ispitanika

Potencijalne ispitanike predstavljali su vanbolnički bolesnici s utvrđenim urinarnim izolatom ESBL soja *E. coli* i/ili *K. pneumoniae* u značajnom broju ( $>10^5$  CFU/ml), *in vitro* osjetljivog na fosfomicin. O mogućnosti za sudjelovanje u ovom kliničkom ispitivanju, odnosno primjenu fosfomicina mogli su saznati na više načina. Prilikom podizanja nalaza urinokulture u Medicinsko-biokemijskom laboratoriju Breyer, dobivali su informacijsku brošuru o mogućnosti primjene fosfomicina (Monurila) za liječenje urinarne infekcije uzrokovane ESBL sojem. Nakon konzultacije sa svojim liječnikom mogli su se javiti na telefonski kontakt naveden u brošuri.

Dio bolesnika je za istraživanje saznao od svojih specijalista u KBC-u Zagreb koji su putem predavanja i informacijskih letaka bili upoznati sa ovim istraživanjem. To se ponajprije odnosilo na specijaliste interne medicine, poglavito nefrologe, ali i specijaliste drugih struka koji dolaze u kontakt s bolesnicima koji imaju urinarne infekcije uzrokovane ESBL sojevima, primjerice urolozi, hematolozi, klinički farmakolozi.

Bolesnici su također informacijsku brošuru mogli dobiti u Centru za hitnu medicinu KBC-a Zagreb. Konačno, kad bi se u nekom od laboratorija navedenim u odjeljku 7.2. detektirao ESBL soj i potom dokazala osjetljivost na fosfomicin, telefonski je s istraživanjem upoznat liječnik koji je bolesnika uputio na pretragu kulture urina, a potom je, u slučaju suglasnosti liječnika telefonski kontaktiran bolesnik koji je upoznat s mogućnošću sudjelovanja u ovom kliničkom ispitivanju.

## 4.5. Uključivanje ispitanika u istraživanje

Bolesnicima koji su bili zainteresirani za terapiju fosfomicinom (Monurilom) uzeta je anamneza i fizikalni status u Dnevnoj bolnici Zavoda za kliničku farmakologiju KBC-a Zagreb. Na taj način svaki je bolesnik praćen kroz svoju povijest bolesti. Oni koji su zadovoljavali uključne i isključne kriterije uključeni su u ovo kliničko ispitivanje nakon potpisivanja informiranog pristanka (vidi Prilog).

### Uključni kriteriji:

1. Nalaz pozitivne kulture urina s izoliranim ESBL sojem *E. coli* i/ili *K. pneumoniae*, s  $\geq 10^5$  kolonija/ml urina (srednji mlaz urina), a iznimno u slučaju jasne kliničke slike, muškog spola ili aktualne antibiotske terapije  $\geq 10^2$  i  $< 10^5$  kolonija/ml urina\*; kod bolesnika s kateterom prag je iznosio  $10^3$  kolonija/ml urina.\*\*
2. *In vitro* osjetljivost na fosfomicin.
3. Simptomi i/ili znakovi infekcija urinarnog trakta (dizurija, polakisurija, urgencija, suprapubična osjetljivost, subfebrilitet i/ili hematurija).\*\*\*
4. Patološki nalaz semikvantitativne analize urina (pozitivna leukocitna esteraza ili pozitivni nitriti).\*\*\*\*

\* Kod asimptomatskih bolesnika standardni prag koji označava značajni bakterijski rast u uzorku dobivenom srednjim mlazom urina iznosi  $\geq 10^5$  kolonija/ml urina, kako bi se razlučilo bolesnike s bakteriurijom mokraćnog mjehura od bolesnika s kontaminiranim uzorkom. Međutim, kod simptomatskih žena s pijurijom i niži broj kolonija ( $\geq 10^2$  kolonija/ml urina) često je udružen s bakteriurijom mokraćnog mjehura. Zbog toga, u slučaju jasnih kliničkih simptoma i/ili znakova urinarnog infekta, nalaz  $\geq 10^2$  i  $< 10^5$  kolonija/ml urina može upućivati na infekciju urinarnog trakta. Nalaz nižeg broja kolonija/ml urina kod žena s infekcijama urinarnog trakta može se objasniti ranijim stadijem infekta ili učinkovitim isplavlivanjem uzročnika mikcijom. Niži broj kolonija također može biti značajan ako se detektira tijekom antibiotske terapije ili kod muškaraca.<sup>143</sup> Stoga je u navedenim okolnostima i nalaz od  $\geq 10^2$  i  $< 10^5$  kolonija/ml urina uzet kao zadovoljen uključni kriterij pa su osobe mogle biti uključene u istraživanje.

\*\* Budući da je periuretralna kontaminacija uzorka urina manje vjerojatna kod uzoraka dobivenih kroz urinarni kateter, kod simptomatskih bolesnika s kateterom prema preporukama više infektoloških društava kao prag koji označava stvarnu bakteriuriju mokraćnog mjehura uzima se niži broj kolonija/ml urina. Iako se kod simptomatskih bolesnika nerijetko kao granica uzima i  $10^2$  kolonija/ml urina,

dogovorno se većinom kao granica označava  $10^3$  kolonija/ml urina, budući da većina laboratorija ne kvantificira porast kolonija manji od tog broja.<sup>144</sup>

\*\*\* Sama pozitivna kultura urina sa ili bez leukociturije nije dovoljna za dijagnozu infekcije urinarnog trakta. Simptome akutne infekcije urinarnog trakta u bolesnika s urinarnim kateterom ponekad nije jednostavno odrediti. Uključuju suprapubičnu osjetljivost, febrilitet, bolnu lumbalnu sukusiju i pogoršanje općeg stanja uključujući i pogoršanje stanja svijesti. U ovom istraživanju uključivani su bolesnici s kateterom ako imaju pozitivnu urinokulturu, neki znak infekcije urinarnog trakta (suprapubična osjetljivost ili subfebrilitet) i pozitivan nalaz semikvantitativne analize urina (pozitivna leukocitna esteraza i/ili nitriti).<sup>144</sup>

\*\*\* S obzirom na to da je osjetljivost pozitivne leukocitne esteraze ili pozitivnih nitrita 75%, ukoliko bolesnik ima pozitivnu urinokulturu i jasne kliničke znakove urinarnog infekta, negativni nalaz semikvantitativne analize urina smatrat će se lažno negativnim. Test leukocitne esteraze je visoko osjetljiv i specifičan ako se obavlja kod simptomatskih bolesnika. Iako negativan nalaz "dipstick" testa smanjuje vjerojatnost za infekcije urinarnog trakta na manje od 20%, ona se ne može isključiti u simptomatskih bolesnika.<sup>145</sup>

### Isključni kriteriji:

1. Aksilarna temperatura  $>37,5$  °C, opće loše stanje, mučnina i povraćanje\*
2. Leukocitoza ili skretanje ulijevo\*
3. Bolna lumbalna sukusija\*
4. Klirens kreatinina  $<10$  ml/min ili trajna hemodijaliza\*\*
5. Istovremena terapija metoklopramidom\*\*\*

\* Povišena tjelesna temperatura (pogotovo  $> 38$  °C), opće loše stanje, mučnina i povraćanje, značajan porast upalnih parametara, bolovi u lumbalnim ložama i bolna lumbalna sukusija ukazuju na razvoj akutnog kompliciranog pijelonefritisa, odnosno na zahvaćanje gornjeg urinarnog sustava.<sup>146</sup> Fosfomicin se ne preporuča kao terapija akutnog kompliciranog pijelonefritisa.<sup>1</sup>

\*\* Prema sažetku opisa svojstava lijeka, primjena Monurila je kontraindicirana kod osoba čiji je klirens kreatinina  $<10$  ml/min, kao i kod osoba na trajnoj hemodijalizi, budući da eliminacija fosfomicina iz organizma ovisi o glomerularnoj filtraciji. Ostale

kontraindikacije uključuju preosjetljivost na lijek ili na neku komponentu lijeka, a lijek je kontraindiciran i u djece mlađe od 5 godina.<sup>53</sup>

\*\*\* Istovremena primjena metoklopramida smanjuje serumske i urinarne koncentracije fosfomicina, zbog čega navedenu kombinaciju valja izbjegavati.<sup>53</sup>



## 4.6. Randomizacija

Ova doktorska disertacija predstavlja prospektivno randomizirano kontrolirano kliničko ispitivanje, što je eksperimentalni dizajn koji se smatra zlatnim standardom glede kvalitete dokaza dobivenim istraživanjem. Budući da je već u planiranju ispitivanja pretpostavljeno da će razlika u učinkovitosti mikrobiološkog izlječenja između eksperimentalne grupe i kontrolne grupe biti značajna (pretpostavljena razlika iznosila je 25%), procijenjeni uzorak je bio malen. Stoga se, da bi se izbjegla neravnomjerna raspodjela ispitanika u skupinama, pribjeglo tehnici minimizacije kao načinu randomizacije ispitanika. Navedena se tehnika danas najčešće koristi u kliničkim ispitivanjima s pretpostavljenim malim uzorkom bolesnika te se u tom slučaju smatra znanstveno najboljim načinom randomizacije.<sup>147</sup> Strogo gledano, ne radi se o „čistoj randomizaciji“, odnosno svaki sljedeći ispitanik nema jednaku šansu raspodjeljivanja u eksperimentalnu i kontrolnu grupu. Kad bi imao, u malom uzorku bolesnika nesumnjivo bi došlo do neravnomjerne raspodjele, što onda značajno utječe na rezultate ispitivanja i dovodi do greške. Suprotne tome, tehnika randomizacije podrazumijeva identifikaciju niza faktora za koje se, na temelju dostupne literature, može očekivati da utječu na ishod liječenja. U ovom istraživanju radilo se o tzv. komplicirajućim faktorima koji su navedeni u Tablici 4. Svakom faktoru se pridaje odgovarajuća „težina“, pri čemu veća „težina“ znači da određeni faktor ima veći pretpostavljeni utjecaj na ishod liječenja. U ovom istraživanju je svakom od 12 komplicirajućih faktora pridana ista „težina“. Na početku kliničkog ispitivanja randomizacijski program koji provodi tehniku minimizacije alocira ispitanike u eksperimentalnu i kontrolnu grupu s jednakom šansom. Nakon toga, kako istraživanje napreduje i dolazi do nakupljanja ispitanika s određenim faktorom u određenoj grupi (primjerice, u eksperimentalnoj grupi dođe do većeg broja ispitanika s dijabetesom u odnosu na kontrolnu grupu), program daje sljedećem ispitaniku s tim faktorom veću šansu da bude alociran u drugu grupu (u ovom primjeru će sljedeći ispitanik s dijabetesom imati veću šansu da bude alociran u kontrolnu grupu). Program koji je korišten u ovom kliničkom ispitivanju zove se MinimPy i besplatno je dostupan na internetu.

## 4.7. Tijek ispitivanja

U prvom dolasku u dnevnu bolnicu Zavoda za kliničku farmakologiju svaki je bolesnik s kompliciranom infekcijom urinarnog trakta nakon potpisivanja informiranog pristanka randomiziran u odgovarajuću grupu. Ispitanicima je objašnjeno da je infekcija uzrokovana ESBL bakterijskim sojem te da je navedeni soj dokazano osjetljiv na fosfomicin. Nakon uzimanja detaljne anamneze (primarno usmjerene na simptome infekta i prisustvo komplicirajućih faktora) i fizikalnog statusa svakom je bolesniku dana kratka povijest bolesti. Također je učinjena semikvantitativna analiza urina urinskom test trakom (ispitivanje leukocitne esteraze i nitrita). Nakon randomizacije bolesniku je uručena 1 odnosno 3 doze fosfomicina te je objašnjen način uzimanja lijeka (navečer prije spavanja) te ritam uzimanja terapije (svaki drugi dan u slučaju uzimanja 3 doze). Svakom je ispitaniku ostavljen telefonski kontakt na koji se može javiti u slučaju nuspojava ili drugih problema ili pitanja. U sklopu postupka informiranog pristanka objašnjeno je da je u svakom trenutku moguć odustanak od liječenja, odnosno prekid terapije.

U drugom dolasku u dnevnu bolnicu Zavoda za kliničku farmakologiju (7-9 dana nakon završetka terapije) ponovno je uzeta anamneza (primarno usmjerena na prisustvo/odsustvo simptoma infekcije urinarnog trakta) te je, budući da je kod većine bolesnika došlo do rezolucije tegoba stavljen naglasak na utvrđivanje točnog vremena kad je došlo do prestanka smetnji. Svaki je ispitanik izrijekom pitan o eventualnim nuspojavama tijekom liječenja te je ponovno uzet urin (za kontrolnu urinokulturu i semikvantitativnu analizu urina urinskom testnom trakom) i dovršena povijest bolesti. Onim bolesnicima koji su tretirani s 1 dozom fosfomicina, a nisu bili izliječeni (mikrobiološki i/ili klinički) ponuđen je nastavak liječenja s 3 doze fosfomicina, ukoliko je za ESBL soj ponovnim *in vitro* testiranjem utvrđeno da je osjetljiv na fosfomicin. Na taj način je dio bolesnika predstavljao bio sam sebi kontrola, a ujedno niti jedan ispitanik nije bio „zakinut“ za produženu shemu doziranja fosfomicina, za koju je pretpostavljeno da predstavlja učinkovitiju terapiju.

Uspjeh terapije procijenjen je kontrolnom urinokulturom 7-9 dana nakon završetka terapije, što je u skladu s međunarodno prihvaćenim preporukama te metodologijom korištenom u dosadašnjim istraživanjima.<sup>148</sup>

## 5. REZULTATI

### 5.1. *In vitro* osjetljivost ESBL sojeva na fosfomicin

Rezultati *in vitro* osjetljivosti ESBL sojeva *E. coli* i *K. pneumoniae* na fosfomicin zbirno su prikazani u Tablici 4. Iz analize su izostavljeni svi cefalosporini osim ceftibutena i cefepima, jer su stope osjetljivosti zanemarivo niske (<5%). Isto vrijedi i za amoksisilin (svi izolati bili su rezistentni). Od aminoglikozida su prikazani rezultati osjetljivosti samo za gentamicin, jer je broj izolata testiranih na amikacin i netilmicin bio premalen za analizu. Od kinolona je prikazana osjetljivost na ciprofloksacin; rezultati za norfloksacin se praktički u potpunosti podudaraju, s iznimkom svega nekoliko pojedinačnih izolata. Slično podudaranje rezultata za ciprofloksacin i norfloksacin prisutno je i u drugim publikacijama. Primjerice, u istraživanju Meiera i suradnika na ciprofloksacin je bilo rezistentno 84.8%, a na norfloksacin 83.9% od testirana 123 urinarna izolata *E. coli* ESBL.<sup>125</sup>

Svi testirani ESBL izolati *E. coli* bili su osjetljivi na fosfomicin i karbapeneme. Stopa osjetljivosti *E. coli* ESBL na sve ostale prikazane antibiotike bila je statistički značajno niža nego na fosfomicin ( $p < 0.001$ ). Na drugom mjestu je nitrofurantoin, na kojeg je 72% izolata bilo osjetljivo, a na trećem ceftibuten sa 68%. Rezistencija na ciprofloksacin je zabrinjavajuće visoka i iznosi 90%.

Za razliku od 100%-tne osjetljivosti *E. coli* ESBL na fosfomicin, svega je 45% ESBL izolata *K. pneumoniae* bilo osjetljivo. Ako se kao granična vrijednost MIK-a uzme vrijednost od  $\leq 64$  mg/l (kao ona koja je korištena u većini dosadašnjih istraživanja), stopa osjetljivosti *K. pneumoniae* ESBL je nešto viša, ali i dalje niska i iznosi 55% (26/47 izolata). Najvišu stopu *in vitro* osjetljivosti (nakon karbapenema) imao je ceftibuten (59%), ali razlika prema fosfomicinu nije bila statistički značajna ( $p > 0.05$ ,  $p = 0.18$ ). Razina *in vitro* osjetljivosti na sve ostale antibiotike bila je niska te u slučaju gentamicina, ciprofloksacina i cefepima statistički značajno niža nego kod fosfomicina ( $p < 0.01$ ).

Ako se usporedi učestalost rezistencije *K. pneumoniae* na fosfomicin između onih izolata koji su skupljeni na KBC-u Zagreb i izolata koji su skupljeni izvan njega, nema značajne razlike. U centrima koji su sudjelovali u istraživanju (osim KBC-a Zagreb) prikupljeno je 15 ESBL izolata *K. pneumoniae*, i od njih je 8 bilo osjetljivo na fosfomicin (53%), dok je u KBC-u Zagreb, gdje su prikupljeni preostali izolati njih 13/32 bilo osjetljivo na fosfomicin (41%). Navedena razlika nije statistički značajna ( $p > 0.05$ ,  $p = 0.41$ ).

Rezistencija *K. pneumoniae* ESBL je zabrinjavajuća. Čak je 9/47 izolata (19%) bilo rezistentno na sve testirane peroralne antibiotike, uključujući i fosfomicin. Iz navedenoga proizlazi da je hospitalizacija nužna za svakog petog bolesnika s ESBL

sojem *K. pneumoniae*. Ipak, moguće je da bi navedeni udio bio nešto niži, jer 4 od 9 izolata nije bilo testirano na ceftibuten, na koji bi možda bili *in vitro* osjetljivi.

**Tablica 4.** Udjeli *in vitro* osjetljivosti na fosfomicin kod *E. coli*, *K. pneumoniae* i ukupno, prema EUCAST standardima

Antibiotik	<i>E. coli</i> – udio osjetljivih izolata <sup>1</sup>	<i>K. pneumoniae</i> – udio osjetljivih izolata <sup>1</sup>	Svi ESBL izolati – uključujući 3 izolata <i>Citrobactera</i> i 2 <i>Enterobactera</i> spp.
fosfomicin	100% (70/70)	45% (21/47)	79% (96/122)
nitrofurantoin <sup>6</sup>	72% (48/67)	nije primjenjivo	nije primjenjivo
ceftibuten <sup>6</sup>	68% (42/62)	59% (22/37)	64% (65/102)
piperacilin/tazobaktam <sup>6</sup>	60% (39/65) <sup>2</sup>	26% (12/46) <sup>3</sup>	46% (53/116)
gentamicin <sup>6, 7</sup>	59% (41/70)	13% (6/46)	40% (48/121)
koamoksiklav <sup>6</sup>	50% (35/70)	30% (14/47)	41% (50/122)
kotrimoksazol <sup>6</sup>	23% (16/70)	34% (16/47)	27% (33/122)
cefepim <sup>6, 7</sup>	18% (10/56) <sup>4</sup>	13% (5/40) <sup>5</sup>	16% (16/101)
ciprofloksacin <sup>6, 7</sup>	10% (7/68)	13% (6/47)	11% (13/120)

<sup>1</sup> MIK ≤32 mg/l

<sup>2</sup> dodatnih 22% (14/65) ESBL izolata *E. coli* bilo je intermedijarno osjetljivo na piperacilin/tazobaktam

<sup>3</sup> dodatnih 28% (13/46) ESBL izolata *K. pneumoniae* bilo je intermedijarno osjetljivo na piperacilin/tazobaktam

<sup>4</sup> dodatnih 9% (5/56) izolata *E. coli* bilo je intermedijarno osjetljivo na cefepim

<sup>5</sup> dodatnih 10% (4/40) izolata *K. pneumoniae* bilo je intermedijarno osjetljivo na cefepim

<sup>6</sup> stopa *in vitro* osjetljivosti ESBL izolata *E. coli* statistički je značajno niža nego kod fosfomicina ( $p < 0.001$ )

<sup>7</sup> stopa *in vitro* osjetljivosti ESBL izolata *K. pneumoniae* statistički je značajno niža nego kod fosfomicina ( $p < 0.01$ )

<sup>8</sup> stopa *in vitro* osjetljivosti ESBL izolata *K. pneumoniae* statistički je značajno niža nego kod fosfomicina ( $p < 0.001$ )

Fosfomicin i ceftibuten su bili jedine peroralne terapijske opcije kod 4 izolata *K. pneumoniae* ESBL (dakle kod ukupno 8 izolata), uz napomenu da bi u slučaju ceftibutena ta brojka možda bila i veća (a u slučaju fosfomicina manja) da su gore spomenuta 4 izolata multirezistentne *K. pneumoniae* bile testirane na ceftibuten. U 3 izolata jedina peroralna terapijska opcija je bio koamoksiklav, a u 2 kotrimoksazol. Iz navedenoga proizlazi da je 13/47 izolata (28%) *K. pneumoniae* ESBL osjetljivo samo na 1 peroralni antibiotik, odnosno da je gotovo polovica izolata *K. pneumoniae* ESBL (22/47 odnosno 47%) *in vitro* osjetljivo na samo jedan ili niti jedan peroralni antibiotik.

Zbirno gledajući sve ESBL izolate fosfomicin je imao najveću stopu osjetljivosti od 79% (96/122), a na drugom mjestu je ceftibuten sa 64% (65/102). Ovdje je osim izolata *E. coli* i *K. pneumoniae* ESBL ubrojano i 5 ostalih prikupljenih ESBL izolata (3 izolata *Citrobacteria freundii* i 2 izolata *Enterobacteria spp.*). Na sve ostale testirane antibiotike osim karbapenema, fosfomicina i ceftibutena ESBL izolati su bili osjetljivi u manje od 50% slučajeva, a udjeli osjetljivosti su izrazito niski za kotrimoksazol (27%) i ciprofloksacin (11%). Razlika između stope *in vitro* osjetljivosti svih ESBL izolata na fosfomicin i ceftibuten je statistički značajna ( $p < 0.05$ ,  $p = 0.013$ ), dok je statistička značajnost razlike prema svim ostalim testiranim antibioticima još izraženija ( $p < 0.001$ ).

Četiri su izolata *E. coli* ESBL bila *in vitro* osjetljiva samo na fosfomicin, dakle u 6% slučajeva mogla se zbog dostupnosti fosfomicina izbjeći hospitalizacija, uz napomenu da 2 od navedena 4 izolata nisu bila testirana na ceftibuten, na koji bi možda bili osjetljivi.

Iako su u ovom istraživanju *in vitro* testirana samo 3 izolata *Citrobacteria freundii* ESBL, čak su 2 izolata bila rezistentna na sve druge peroralne antibiotike osim fosfomicina. Minimalna inhibitorna koncentracija je kod oba izolata bila izrazito niska ( $\leq 0.5$  mg/l i  $\leq 1$  mg/l). Također, oba izolata bila su osim na fosfomicin osjetljiva samo na karbapeneme.

Zaključno se može reći da je fosfomicin bio jedina peroralna terapijska opcija u 10 testiranih ESBL izolata (4 *E. coli*, 4 *K. pneumoniae* i 2 *Citrobacter freundii*), odnosno u 8% svih testiranih ESBL izolata.

## 5.2. Karakteristike bolesnika

**Tablica 5.** Karakteristike bolesnika prema dobi, spolu, bakterijskim izolatima i komplicirajućim faktorima.

	Ukupno N=33	Ekperimentalna grupa N=17	Kontrolna grupa N=16
Prosječna životna dob	72	69	76
Bolesnici u dobi od 18 – 65 godina	11	9	2
Bolesnici stariji od 65 godina	22	8	14
Žene	30	15	15
Muškarci	3	2	1
Prosječni klirens kreatinina prema MDRD formuli	60	62	57
Broj izolata <i>E. coli</i> ESBL >10 <sup>5</sup> CFU/ml	28	14	14
Broj izolata <i>K.</i> <i>pneumoniae</i> ESBL >10 <sup>5</sup> CFU/ml	2	1	1
Broj izolata <i>K.</i> <i>pneumoniae</i> i <i>E. coli</i> ESBL >10 <sup>5</sup> CFU/ml	2	1	1
Broj izolata <i>Citrobacter</i> <i>freundii</i> ESBL >10 <sup>5</sup> CFU/ml	1	1	0
Bez komplicirajućeg faktora	1	0	1
Urolitijaza	5	3	2
Benigna hiperplazija prostate	1	0	1

Tumori urotrakta	0	0	0
Nedavni urološki zahvat <sup>1</sup>	3	2	1
Urinarni kateter, perkutana nefrostoma ili ureteralni stent	5	3	2
Maligni tumor izvan urotrakta	2	1	1
Transplantacija bubrega	2	1	1
Imunosupresivna terapija <sup>2</sup>	3	2	1
Diabetes mellitus	8	4	4
Kronična bolest bubrega	8	4	4
Neurogeni mjehur	2	1	1
Rekurentne infekcije urinarnog trakta <sup>3</sup>	28	14	14
Prosječni broj komplicirajućih faktora	2.0	2.1	2.0

<sup>1</sup> Kateterizacija mokraćnog mjehura, cistoskopija i drugi endoskopski transuretralni urološki zahvati ili kirurški urološki zahvati unutar zadnjih 6 mjeseci.<sup>149</sup> <sup>2</sup> Kemoterapija unutar zadnjih 30 dana, prednizon  $\geq 30$  mg dnevno (ili ekvivalentna doza nekog drugog kortikosteroida), ili druga vrsta imunosupresiva (npr. inhibitori kalcineurina, m-TOR inhibitori). <sup>3</sup> Dvije ili više infekcija urinarnog trakta u zadnjih 6 mjeseci, ili 3 ili više u zadnjih godinu dana).<sup>150</sup>

Svi bolesnici koji su sudjelovali u ovom kliničkom ispitivanju imali su komplicirane infekcije urinarnog trakta. Trideset i dvoje od 33 bolesnika (97%) imalo je 1 ili više komplicirajućih faktora. Ispitanici su prosječno imali 2.0 komplicirajuća faktora, 2.1 u eksperimentalnoj i 2.0 u kontrolnoj grupi. Po tome se vidi da su unatoč maloj veličini uzorka grupe bile uravnotežene, što je postignuto u randomizaciji tehnikom minimizacije. Najveći broj komplicirajućih faktora (njih 6) imao je bolesnik sa stanjem nakon transplantacije bubrega (stanje nakon transplantacije bubrega,

urološki operativni zahvat prije 3 mjeseca, dijabetes tipa 2, kronična bolest bubrega, terapija imunosupresivnim lijekovima, rekurentne infekcije urinarnog trakta). Daleko najčešći komplicirajući faktor bila je anamneza rekurentnih urinarnih infekcija priustne u čak 28 ispitanika (85%), a na drugom mjestu su bili dijabetes melitus i kronična bolest bubrega, koji su bili prisutni u 24% ispitanika. Potonje je vjerojatno posljedica činjenice da je većina bolesnika u ispitivanju bila starije životne dobi te činjenice da dijabetes često dovodi do kronične bolesti bubrega.

Većina bolesnika u ovom istraživanju (67%) bila je starije životne dobi (22/33). Prosječna životna dob ispitanika iznosila je 72 godine, u eksperimentalnoj grupi 69 godina, a u kontrolnoj grupi 76 godina. Dobni raspon se kretao od 19 do 93 godine života.

Kod 85% bolesnika koji su liječeni fosfomicinom bila je izolirana *E. coli* ESBL (28/33). Kod ostalih je bila izolirana *K. pneumoniae* ESBL (2 bolesnika), *K. pneumoniae* ESBL i *E. coli* ESBL (2 bolesnika) ili *Citrobacter freundii* ESBL (1 bolesnik).



### 5.3. Djelotvornost fosfomicina u liječenju infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL sojevima *E. coli* i *K. pneumoniae*

Rezultati ovog kliničkog ispitivanja pokazuju da je terapija s 3 doze fosfomicina značajno djelotvornija od terapije jednom dozom. Navedeno vrijedi i za stopu mikrobiološkog i za stopu kliničkog izlječenja. Rezultati su prikazani u Tablici 6.

**Tablica 6.** Udjeli mikrobiološkog<sup>1</sup> i kliničkog<sup>2</sup> izlječenja u eksperimentalnoj i kontrolnoj skupini

	Eksperimentalna grupa	Kontrolna grupa
Udio mikrobiološkog izlječenja	9/17 (53%)	2/15 (13%)
Udio kliničkog izlječenja	13/17 (76%)	6/15 (40%)

<sup>1</sup>sterilna UK, kontaminacija bez detektiranog ESBL izolata ( $<10^3$  CFU/ml bakterije osjetljive na fosfomicin) ili nalaz nepatogenog mikroorganizma bez detektiranog ESBL izolata 7-9 dana nakon završetka terapije

<sup>2</sup>odsustvo simptoma i znakova infekcije urinarnog trakta prisutnih prije početka terapije fosfomicinom na kontrolnom pregledu 7-9 dana nakon završetka terapije

Od svih bolesnika koji su bili uključeni u ovo kliničko ispitivanje, jedna je bolesnica zbog slabije suradljivosti isključena iz analize, odnosno nije došla na kontrolni pregled tako da u kontrolnoj grupi nema 16 nego 15 rezultata.

Mikrobiološko izlječenje definirano je kao sterilna urinokultura ili kao urinokultura koja sadrži samo nepatogene bakterije (npr. *Corynebacterium* spp.), ili 1 vrstu bakterije u malom, nesignifikantnom broju ( $<10^3$  CFU/ml) koja je osjetljiva na fosfomicin i nije ESBL već divlji soj. U datom slučaju je navedeno protumačeno kao kontaminacija uzorka. U sva je 3 slučaja (sterilna UK, nepatogeni mikroorganizam u UK ili  $<10^3$  CFU/ml bakterije osjetljive na fosfomicin) ESBL izolat prisutan prije početka terapije eradiciran.

Uz ovako postavljenu definiciju mikrobiološkog izlječenja, koja je u skladu s metodologijom drugih istraživanja,<sup>88, 89</sup> dobiven je udio mikrobiološkog izlječenja u eksperimentalnoj grupi od 53% i udio od 13% u kontrolnoj grupi, što predstavlja klinički i statistički značajnu razliku ( $p<0.05$ ,  $p=0.019$ ). Valja napomenuti da se uz gore spomenutu definiciju mikrobiološkog izlječenja u 9/11 kontrolnih UK radilo o

sterilnoj UK, u jednoj UK je bio prisutan nepatogeni mikroorganizam, a u jednoj UK je bio izoliran divlji soj *K. pneumoniae* u malom broju  $<10^3$  CFU/ml, osjetljiv na sve testirane antibiotike, uključujući i fosfomicin.

Kliničko je izlječenje postignuto kod 76% bolesnika u eksperimentalnoj grupi i kod 40% bolesnika u kontrolnoj grupi. Navedena razlika je klinički i statistički značajna ( $p<0.05$ ,  $p=0.036$ ). Kod više od 76% bolesnika (i u eksperimentalnoj i u kontrolnoj grupi došlo je do povlačenja simptoma infekcije urinarnog trakta već 1 dan nakon početka terapije fosfomicinom, ali bi do sljedeće kontrole (7-9 dana nakon završetka liječenja) u kontrolnoj grupi često dolazilo do povratka simptoma/znakova infekcije urinarnog trakta.

## 6. RASPRAVA

### 6.1. Analiza rezultata

U ovom su istraživanju sudjelovali bolesnici s kompliciranom infekcijom urinarnog trakta. Već sama detekcija uropatogena sa širokim spektrom rezistencije dovoljna je za karakterizaciju infekcije urinarnog trakta kao komplicirane,<sup>1</sup> a 97% ispitanika imalo je i 1 ili više komplicirajućih faktora (Tablica 4). Činjenica da je daleko najčešći komplicirajući faktor bio rekurentne infekcije urinarnog trakta (prisutan kod 85% ispitanika) ukazuje na to da je ESBL fenotip uzročnika urinarnog infekta kod većine bolesnika vjerojatno bio stečen uslijed ponavljane antibiotske terapije.

Rezultati *in vitro* ispitivanja ESBL sojeva ukazuju na to da je većina ESBL izolata osjetljiva na fosfomicin. Koristeći EUCAST-ove standarde kao referentne, ukupno je 79% testiranih ESBL izolata bilo osjetljivo (prema EUCAST standardima osjetljivi sojevi enterobakterija su oni čiji je MIK  $\leq 32$  mg/l).<sup>141</sup> Navedeno je statistički značajno bolji rezultat nego kod svih drugih testiranih antibiotika, uključujući i ceftibuten koji se nalazi na 2. mjestu ( $p < 0.05$ ,  $p = 0.013$ ). To ukazuje na vrijednost fosfomicina kao potencijalne peroralne terapije za liječenje infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL sojevima. Suprotno tome, stopa *in vitro* osjetljivosti ESBL izolata na kotrimoksazol (27%) i kinolone (11%) je toliko niska da se nikad ne bi smjeli upotrebljavati u empirijskoj terapiji ovih infekcija kod bolesnika s anamnezom ESBL izolata.

Budući da je *in vitro* osjetljivost ESBL izolata *E. coli* na fosfomicin 100%, fosfomicin se za infekcije uzrokovane ovim sojevima može primjenjivati empirijski (rutinsko testiranje na fosfomicin se uglavnom u kliničkoj praksi ne provodi). Sudeći prema rezultatima provedenog *in vitro* testiranja, navedeno ne vrijedi niti za jedan drugi antibiotik (osim karbapenema). Iako su ESBL izolati *E. coli* u relativno visokom postotku (72%) osjetljivi na nitrofurantoin, navedena razina osjetljivosti je preniska da bi se ovaj antibiotik mogao empirijski primjenjivati kod infekcija uzrokovanih ovim sojevima. Nadalje, prema smjernicama EUCAST-a nitrofurantoin se preporuča samo za liječenje nekompliciranih infekcija urinarnog trakta. Empirijska primjena u praksi vrlo često korištenih antibiotika za infekcije urinarnog trakta - kotrimoksazola i ciprofloksacina u ovoj indikaciji ne dolazi u obzir, zbog izrazito niske razine *in vitro* osjetljivosti (23% odnosno 10%). Osim fosfomicina i nitrofurantoina od peroralnih se antibiotika još jedino ceftibuten ističe većom stopom osjetljivosti (68%). Stope osjetljivosti *E. coli* ESBL na ostale su antibiotike izrazito niske. Primjerice, za kotrimoksazol i ciprofloksacin su stope rezistencije iznosile 77% i 90%. Valja istaknuti da je univerzalna *in vitro* podložnost ESBL izolata *E. coli* fosfomicinu u skladu s rezultatima drugih istraživanja spomenutih u odjeljku 1.13. Primjerice, rezultati vrlo nalikuju rezultatima istraživanja Meiera i suranika koji su proveli testiranje 123

urinarna izolata *E. coli* ESBL u tercijskom centru u Švicarskoj gdje je 100% izolata bilo osjetljivo na fosfomicin (identično kao u ovom istraživanju) i 85% na nitrofurantoin, dok je rezistencija na kotrimoksazol iznosila 75.9% (praktički identično kao u ovom istraživanju), a na ciprofloksacin 84.8%.<sup>125</sup>

Također, stopa osjetljivosti je ista kao i kod divljih sojeva *E. coli*. Naime u publikaciji Keatinga i suradnika navodi se stopa osjetljivosti 9,389 izolata obične *E. coli* od 97.2-100%, što je zbirni prikaz osjetljivosti izolata prikupljenih iz 8 istraživanja. Drugim riječima, čini se da sam ESBL fenotip nema utjecaja na stopu osjetljivosti na fosfomicin. Također, i kod obične *E. coli* fosfomicin ima najveću stopu *in vitro* osjetljivosti, a kao i kod *E. coli* ESBL, slijedi ga nitrofurantoin.<sup>36</sup>

Za razliku od univerzalne podložnosti ESBL sojeva *E. coli* na fosfomicin, stopa *in vitro* osjetljivosti *K. pneumoniae* bila je puno niža i iznosila je 45%. Navedena stopa je značajno niža nego u većini drugih istraživanja (vidi Tablicu 1). Stopa *in vitro* osjetljivosti *K. pneumoniae* je također značajno niža od one koja je pretpostavljena u hipotezi istraživanja. To se djelomično može objasniti činjenicom da su u mnogim istraživanjima korišteni CLSI standardi prema kojima granična vrijednost MIK-a za fosfomicin iznosi 64 mg/l. Izostanak porasta pri koncentraciji od 128 mg/l interpretira se kao intermedijarna osjetljivost, dok su rezistentni oni sojevi kod kojih ne dolazi do porasta tek pri koncentraciji fosfomicina od  $\geq 256$  mg/l. Valja naglasiti da je u najvećem pregledu *in vitro* istraživanja Falagasa i suradnika u ukupno samo 2 od 17 studija *in vitro* osjetljivosti kao granična vrijednost MIK-a uzeta koncentracija od  $\leq 32$  mg/l. U 11 od preostalih 15 istraživanja granična vrijednost MIK-a bila je  $\leq 64$  mg/l (prema CLSI standardima), u 2 studije nije bila specificirana, a u preostala 2 istraživanja granična je vrijednost MIK-a iznosila  $\leq 128$  mg/l (prema standardima za granične vrijednosti MIK-a Britanskog društva za antimikrobnu terapiju urinarnih infekcija uzrokovanih gram negativnim štapićima).<sup>137</sup> Upravo je na temelju ovog najvećeg pregleda *in vitro* osjetljivosti ESBL bakterijskih patogena na fosfomicin u hipotezi postavljena očekivana stopa osjetljivosti *K. pneumoniae* od približno 80% (stopa osjetljivosti *K. pneumoniae* je u ovom radu iznosila 81.3%, odnosno 608 od 748 izolata bilo je osjetljivo na fosfomicin), ali navedeno nije bilo moguće potvrditi s obzirom na korištenje granične koncentracije MIK-a od  $\leq 32$  mg/l, prema EUCAST standardima koji se službeno koriste u svim laboratorijima za mikrobiologiju u Republici Hrvatskoj. Međutim, čak i kad se rezultati ovog istraživanja prikažu prema CLSI standardima osjetljivost *K. pneumoniae* ESBL i dalje ostaje relativno niska, i niža nego u većini drugih istraživanja, te iznosi 55% (26/47 izolata). Ipak, navedenim udjelom se rezultat ovog istraživanja približio donjem dijelu raspona osjetljivosti *K. pneumoniae* ESBL od 57.6-100%, koji je objavljen kao zbirni prikaz triju *in vitro* istraživanja u pregledu Keatinga i suradnika (ukupan broj izolata u spomenuta 3 rada iznosio je 249). Rezultati ovog istraživanja upravo nalikuju rezultatima *in vitro* ispitivanja osjetljivosti ESBL sojeva *E. coli* i *K. pneumoniae* objavljenog u Tajvanu 2011. godine. Autori su u tercijskom bolničkom centru prikupili ukupno 200 ESBL izolata. Od 134 izolata *E. coli* ESBL 95.5% bilo je osjetljivo, dok je svega 57.6% od

ukupno 66 izolata *K. pneumoniae* ESBL bilo osjetljivo na fosfomicin. Osjetljivost *E. coli* ESBL na nitrofurantoin također je bila slična kao u ovom istraživanju i iznosila 79.1%. Ostaje otvoreno pitanje je li posljedica niže stope osjetljivosti *K. pneumoniae* ESBL u ovom istraživanju i u istraživanju Liu i suradnika posljedica prikupljanja većine izolata u tercijarnom centru, gdje se mogu očekivati generalno visoke stope rezistencije.<sup>36, 130</sup>

Dodatan razlog za značajno niži udio osjetljivih sojeva *K. pneumoniae* nego što je bilo pretpostavljeno može biti činjenica da je većina izolata prikupljena u KBC-u Zagreb, odnosno od bolesnika koji su ili bili hospitalizirani ili su kao ambulantni bolesnici „gravitirali“ prema KBC-u Zagreb, gdje su bili pregledavani ambulantno, često prije toga i u njemu više puta hospitalizirani i u kojem je dio njih stekao ESBL soj kao nozokomijalnu infekciju. Slično vjerojatno vrijedi i za ostale centre u kojima su prikupljeni uzorci, budući da je i većina tih bolesnika bila prethodno hospitalizirana u nekoj od bolničkih ustanova koje su sudjelovale u istraživanju. S druge strane, u većini su ostalih istraživanja analizirani ambulantno prikupljeni izolati.

Valja istaknuti da su glavni razlozi sve većeg interesa znanstvene i medicinske javnosti za fosfomicin potaknut upravo porazno niskim stopama osjetljivosti urinarnih patogena na najčešće upotrebljavane antibiotike za infekcije urinarnog trakta. Ovo se ponajprije odnosi na fluorokinolone i kotrimoksazol, i to posebno kod multirezistentnih uzročnika. Navedeno je potvrđeno i ovom i drugim istraživanjima.<sup>27, 28</sup>

Posljedično, s obzirom na nisku stopu *in vitro* osjetljivosti u ovom istraživanju, može se reći da fosfomicin nije moguće empirijski primjenjivati za liječenje infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL sojevima *K. pneumoniae*, već je potrebno prethodno izvršiti testiranje *in vitro* osjetljivosti. Unatoč relativno niskoj stopi osjetljivosti ESBL izolata *K. pneumoniae* na fosfomicin (45%), situacija je i dalje bolja nego kod svih drugih antibiotika osim karbapenema (osjetljivost od približno 100%) i ceftibutena (59%). Razlika između osjetljivosti na ceftibuten i fosfomicin nije bila statistički značajna. Na sve ostale testirane antibiotike stopa *in vitro* osjetljivosti je manja od 35%. Testirani izolati *K. pneumoniae* ESBL bili su, slično kao i kod *E. coli*, u vrlo malom postotku osjetljivi na kotrimoksazol (34%) i ciprofloksacin (13%).

Zabrinjavajući rezultat ovog istraživanja je činjenica da je čak 19% izolata *K. pneumoniae* ESBL rezistentno na sve testirane peroralne antibiotike, uključujući i fosfomicin. Ukoliko se navedena epidemiološka situacija potvrdi na većem broju uzoraka, proizlazi da će kod svakog 5. bolesnika s infekcijom uzrokovanom *K. pneumoniae* ESBL biti potrebno hospitalno liječenje.

Gledajući zbirno osjetljivost svih ESBL izolata, najbolje rezultate ima fosfomicin. Razlika između osjetljivosti svih ESBL izolata na fosfomicin i ceftibuten (koji je na 2. mjestu) je statistički značajna ( $p < 0.05$ ,  $p = 0.013$ ), dok je razlika između fosfomicina i ostalih testiranih antibiotika još izraženija ( $p < 0.001$ ). Zaključno se stoga može reći da je nakon karbapenema s obzirom na rezultate *in vitro* osjetljivosti,

fosfomicin prva opcija za liječenje infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL sojevima. Treba napomenuti da se to odnosi na primjenu fosfomicina u više doza. Također, prema najnovijim smjernicama EUCAST-a koamoksiklav, cefaleksin, peroralni oblik cefuroksima i nitrofurantoin se preporučaju samo za liječenje nekompliciranih, a ne i kompliciranih infekcija urinarnog trakta, što dodatno nalaže upotrebu fosfomicina u više doza (te eventualno ceftibutena) za primjenu kod infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL sojevima. Od ostalih bi peroralnih antibiotika još u obzir dolazili kotrimoksazol i kinoloni, ali oni prema ovom istraživanju imaju daleko prenisku stopu osjetljivosti ESBL izolata (kotrimoksazol 27% i ciprofloksacin 11%) za praktičnu mogućnost korištenja u svakodnevnom kliničkom radu.

Posebna vrijednost fosfomicina proizlazi iz činjenice da zbog jedinstvenog mehanizma djelovanja nema ukrížene rezistencije s drugim antibioticima. Iz navedenog proizlazi da ESBL sojevi koji su rezistentni na sve testirane peroralne antibiotike imaju jednaku šansu osjetljivosti na fosfomicin kao i ESBL sojevi kod kojih fosfomicin nije jedina terapijska opcija. U ovom je radu fosfomicin bio jedina (prema antibiogramu) peroralna učinkovita terapijska opcija kod 8% svih ESBL izolata, što znači da bi se dostupnošću fosfomicina na našem tržištu moglo kod 8% bolesnika s infekcijama urinarnoga trakta koje su uzrokovane ESBL sojevima izbjeći hospitalizacija. U ovom su istraživanju liječene 4 osobe s ESBL izolatima koji su bili rezistentni na sve peroralne antibiotike osim fosfomicina te su svi imale dobar klinički odgovor.

Valja napomenuti da je detektiran 1 ESBL izolat *E. coli* koji je bio rezistentan na fosfomicin. Radi se o soju koji je prvotno bio osjetljiv te je stekao rezistenciju nakon terapije s 3 doze fosfomicina. Stjecanje rezistencije tijekom terapije se opisuje u literaturi, a mehanizmi rezistencije su prikazani u odjeljku 3.9. Navedeno predstavlja glavni praktični klinički problem vezan za provođenje prolongirane terapije fosfomicinom, bilo da se radi o i.v. ili o p.o. obliku lijeka. U tom smislu bi bilo potrebno istražiti kliničku djelotvornost istovremene terapije ESBL infekcija fosfomicinom i drugim antibioticima u smislu sinergističkog učinka.

Rezultati ovog kliničkog ispitivanja potvrđuju hipotezu da je shema doziranja fosfomicina svaki drugi dan kroz 5 dana značajno uspješnija za postizanje i mikrobiološkog i kliničkog izlječenja, od uobičajenog, jednokratnog doziranja fosfomicina. Navedeno potvrđuje prepostavke drugih istraživača, iako je stopa mikrobiološkog izlječenja u eksperimentalnoj grupi bila niža nego u drugim ispitivanja u kojima je korištena ista shema doziranja fosfomicina.<sup>88, 89</sup> Također, slično kao i u drugim ispitivanjima, primjena fosfomicina u 3 doze u pravilu se podnosila bez nuspojava. Ukupno je svega troje od 33 bolesnika prijavilo nuspojavu. Ozbiljnih nuspojava nije bilo.

Stopa mikrobiološkog izlječenja u eksperimentalnoj grupi iznosila je 53% te je niža nego u istraživanjima u kojima je korištena slična metodologija. U radu Pulluckua i suradnika iz 2007. godine stopa mikrobiološkog izlječenja iznosila je 78.5%, a u radu Senola i suradnika iz 2010. godine iznosila je 59%.<sup>88, 89</sup> Međutim, valja naglasiti da u najvećem objavljenom radu o ovoj tematici od 52 bolesnika s infekcijama urinarnog trakta uzrokovanih ESBL sojevima njih 16 (31%) nije imalo niti jedan komplicirajući čimbenik, dok je od 33 bolesnika uključenih u ovo kliničko ispitivanje samo 1 bio bez komplicirajućih čimbenika (3%). Nadalje, prosječan broj komplicirajućih faktora po bolesniku je u radu Pulluckua i suradnika bio 0.7, dok je u ovom radu svaki bolesnik imao prosječno 2 komplicirajuća čimbenika. Također, proječna dob ispitanika je u navedenom istraživanju bila 55 godina, dok su u ovom istraživanju bolesnici bili znatno stariji – prosječna dob od 72 godine. Sve je navedeno moralo utjecati na nižu stopu mikrobiološkog izlječenja (53% naspram 78.5%).

Nezadovoljavajuća stopa mikrobiološkog izlječenja ukazuje na to da bi bolesnike s više komplicirajućih faktora, posebno one starije životne dobi i one s rekurentnim infekcijama urinarnog trakta (kod kojih je niz prethodnih antibiotskih terapija bio neuspješan) trebalo primijeniti još veći broj doza. Navedeno je u skladu s dokazanom činjenicom da baktericidni učinak fosfomicina ovisi o vremenu kroz koje su koncentracije fosfomicina u urinu veće od MIK-a uzročnika urinarne infekcije. Literaturni podaci govore u prilog mogućeg produženja terapije do ukupno 3 tjedna trajanja liječenja, što kod bolesnika s klirensom kreatinina >50 ml/min znači primjenu od ukupno 11 doza fosfomicina, a kod onih s klirensom između 10 i 50 ml/min primjenu 7 doza fosfomicina (1 doza svaki 3. dan). Praktično rješenje za moguće odlučivanje o tome je li kod određenog bolesnika moguće terapiju završiti nakon primjene 3 doze bilo bi određivanje kontrolne urinokulture 1-2 dana nakon primjene 3. doze lijeka te potom terapiju produžiti do trajanja od ukupno 3 tjedna kod onih bolesnika koji i dalje imaju u urinokulturi dokazan ESBL soj.

Niska stopa mikrobiološkog i kliničkog izlječenja u kontrolnoj grupi ukazuje na činjenicu da je uobičajena shema doziranja fosfomicina u jednokratnoj peroralnoj dozi (prema uputama u sažetku opisa svojstava lijeka) neadekvatna terapija za liječenje kompliciranih infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL bakterijskim sojevima. Udio mikrobiološkog izlječenja iznosio je svega 13%, a kliničkog 40%, iz čega slijedi da jednokratna primjena fosfomicina u ovoj indikaciji nije opravdana. Iako je kod većine bolesnika do regresije tegoba dolazilo u pravilu već nakon primjene 1. doze (odsustvo tegoba dan nakon primjene 1. doze fosfomicina). To je u skladu s činjenicom da fosfomicin trometamol ubija 99% *S. aureusa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacteria cloacae* i *Citrobacteria freundii* kroz 2.9 h kad su koncentracije fosfomicina dvostruko veće od MIK-a.<sup>39</sup> Međutim, klinički odgovor je uz primjenu samo jedne doze lijeka većinom kratak te do ponovne pojave dizuričkih tegoba često dolazi već u vrijeme kontrolnog pregleda (7-9 dana nakon završetka terapije). Konačno, niska stopa mikrobiološkog izlječenja u kontrolnoj grupi dovela je do pojave

statistički značajne razlike između skupina već nakon prvih 20 rezultata kontrolnih urinokultura, da bi se razlika sa sljedećih 7 rezultata produbila i p vrijednost smanjila na  $<0.02$ . Navedeno je dovelo do značajnog smanjenja veličine uzorka potrebnog za dokazivanje hipoteze ovog istraživanja.



## 6.2. Farmakoekonomski aspekt istraživanja

Fosfomicin nije dostupan na tržištu Republike Hrvatske. Iako je farmaceutska tvrtka Sandoz registrirala fosfomicin pod zaštićenim nazivom Urinex u Republici Hrvatskoj od 26.04.2012., te je registracija važeća do 26.04.2017., lijek nije pušten u promet. Stoga je fosfomicin trometamol za potrebe ovog istraživačkog rada nabavljen interventnim uvozom iz Italije, uz prethodno odobrenje Agencije za lijekove i medicinske proizvode (HALMED). Radi se o pripravku fosfomicina pod zaštićenim nazivom Monuril 3 g granulati, proizvođača Zambona iz Italije. Tristo doza fosfomicina financirana je iz projekta otvorenog u KBC-u Zagreb pod nazivom „Ispitivanje učinkovitosti fosfomicina u liječenju urinarnog trakta Monurilom, Zambon SPA, Italija, Phoenix Farmacija d.d.“. Time je fosfomicin za ispitanike uključene u ovo kliničko ispitivanje bio besplatan.

Ukupna cijena 1 doze fosfomicina (Monurila), koji je uvezen preko Phoenix Farmacije d.d., iznosila je 47,46 kn. U navedenu sumu uračunata je dozvola HALMED-a (2.500,00 kn), porez na dodanu vrijednost (25%), naknada Phoenix Farmacije d.d. i „sama“ cijena lijeka određena od ponuđača (Zambon SPA, Italija). Iz toga proizlazi da ukupni trošak liječenja 1 bolesnika produženom shemom doziranja fosfomicina iznosi 142,38 kn. Važno je naglasiti da su navedeni bolesnici liječeni ambulantno, te stoga ne izostaju s radnog mjesta, čime ne dolazi do dodatnih indirektnih troškova.

Trošak takvog liječenja značajno je manji od troška liječenja u dnevnoj bolnici karbapenemom. Budući da se od svih karbapenema jedino ertapenem dozira jednom dnevno, proizlazi da se samo ertapenem može praktično primjenjivati u dnevnoj bolnici, što je nerijetko praksa, pogotovo kod bolesnika kod kojih je bitno postići sterilnu kontrolnu urinokulturu, a ne samo kliničko izlječenje. Primjer su imunokompromitirani bolesnici poput onih sa stanjem nakon transplantacije bubrega, bolesnici s anamnezom opetovanih urinarnih sepsi uzrokovanih ESBL sojevima, bolesnici sa stanjem nakon kemoterapije te oni kod kojih je planiran urološki ili drugi kirurški zahvat. U maloj prospektivnoj kohorti od 47 bolesnika s kompliciranim infekcijama urinarnog trakta uzrokovanim *E. coli* ESBL, Senol i suradnici navode stopu mikrobiološkog izlječenja u grupi liječenoj karbapenemima (imipenem s cilastatinom ili meropenem) od 80%.<sup>89</sup> Slična stopa mikrobiološkog izlječenja navodi se i u studiji usporedbe ertapenema i ceftriaksona u liječenju kompliciranih infekcija urinarnog trakta uobičajenim sojevima kod većeg uzorka bolesnika.<sup>151</sup> Preporučeno trajanje liječenja kompliciranih infekcija urinarnog trakta iznosi 5-10 dana.<sup>1</sup> S obzirom na cijenu 1 definirane dnevne doze ertapenema od 357,56 kn, ukupni trošak liječenja 1 bolesnika kroz 5-10 dana iznosi 1787,80 - 3575,60 kn. Time je cijena liječenja komplicirane urinarne infekcije uzrokovane ESBL sojem ertapenemom 13 do 25 puta veća od cijene liječenja produženom shemom doziranja fosfomicina. Ovdje nisu

uračunati indirektni troškovi vezani za izbjivanje bolesnika liječenih ertapenemom s radnog mjesta niti troškovi zbrinjavanja bolesnika u dnevnoj bolnici.

U slučaju primjene ertapenema kod 100 bolesnika može se pretpostaviti da će približno 80 biti mikrobiološki izlječeno, uz ukupnu cijenu liječenja od 250.292 kn, ukoliko se lijek primjenjuje kroz 7 dana. Za ista je sredstva primjenom produžene sheme doziranja fosfomicina uz očekivanu stopu mikrobiološkog izlječenja od 60% moguće izlječiti 1055 bolesnika, što je oko 13 puta više nego u slučaju ertapenema.

Ako se uspoređuje cijena liječenja nekomplicirane infekcije urinarnog trakta fosfomicinom s cijenom liječenja drugim uobičajeno upotrebljivanim antibioticima (primjerice kotrimoksazolom, nitrofurantoinom itd) slijedi da je terapija fosfomicinom skuplja. Stoga bi, iz farmakoeekonomske perspektive, fosfomicin (ukoliko se potvrdi njegova učinkovitost u liječenju kompliciranih infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL bakterijskim sojevima) trebalo više upotrebljavati „umjesto“ karbapenema, a manje „umjesto“ drugih uobičajeno upotrebljivanih antibiotika za liječenje nekompliciranih infekcija urinarnog trakta. S druge strane, fosfomicin zbog izvrsnih stopa *in vitro* osjetljivosti uobičajenih urinarnih patogena, jednostavnosti primjene, dobre podnošljivosti, malog potencijala kolateralne štete i visoke kliničke učinkovitosti treba biti, i jest, jedna od prvih terapijskih opcija u liječenju nekompliciranih infekcija urinarnog trakta.

### 6.3. Buduća istraživanja

Fosfomicin se u dosadašnjim i u ovom istraživanju pokazao kao učinkovita, farmakoekonomski isplativa i za bolesnike prihvatljiva terapija za liječenje kompliciranih infekcija urinarnog trakta uzrokovanih bakterijskim patogenima koji produciraju beta laktamaze proširenog spektra. Navedeno se odnosi na primjenu fosfomicina u 3 sukcesivne doze, dok je jednokratno doziranje nedovoljno za primjerenu stopu mikrobiološkog i kliničkog izlječenja. Budući da se u ovom i dosadašnjim istraživanjima stopa mikrobiološkog izlječenja kompliciranih infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL sojevima kreće između 59 i 79%,<sup>88, 89</sup> postavlja se pitanje može li se uz određene promjene načina primjene fosfomicina postići još viša stopa mikrobiološkog izlječenja, koja bi bila jednaka kao kod primjene karbapenema, odnosno iznosila između 80 i 90%.<sup>89, 151</sup>

Najjednostavnije bi bilo provesti ispitivanje učinkovitosti još duže sheme doziranja fosfomicina, primjerice 1 doza svaki drugi dan kroz 9 dana (ukupno 5 doza fosfomicina), ili duže. Može se pretpostaviti da bi se time pospješio baktericidni učinak, jer on primarno ovisi o vremenu kroz koje je koncentracija fosfomicina u urinu veća od MIK-a.<sup>55</sup> Navedeno je također prihvatljivo i sa stajališta sigurnosti primjene lijeka, jer je stopa nuspojava uz režim doziranja od ukupno 3 doze izrazito niska, a postoje i iskustva primjene lijeka kroz ukupno 21 dan, uz primjenu lijeka svaki 2. ili 3. dan.

Nadalje, vršna koncentracija fosfomicina u plazmi nakon i.v. primjene fosfomicin dinatrija (doza od 8 g) je oko 10 puta viša od vršne koncentracije uz peroralnu primjenu fosfomicina u dozi od 3 g.<sup>66</sup> Analogna strategija povećanja učinkovitosti fosfomicina mogla bi se sastojati u jednokratnoj ili višekratnoj primjeni i.v. oblika lijeka, primjerice u primjeni 3 i.v. doze lijeka kroz 5 dana. Očita mana takve strategije sastoji se u nužnosti primjene lijeka u hospitalnim uvjetima.

Drugi potencijalni način povećanja učinkovitosti terapije fosfomicinom je kombinirana primjena fosfomicina i nekog drugog antibiotika. Ova strategija je atraktivna s više aspekata:

1. fosfomicin ima jedinstveni mehanizam djelovanja pa se teoretski može kombinirati sa bilo kojim drugim antibiotikom
2. fosfomicin ne ulazi u farmakokinetičke interakcije s drugim antibioticima
3. fosfomicin dokazano smanjuje toksičnost aminoglikozida, glikopeptida i polimiksina B<sup>152-154</sup>
4. fosfomicin pokazuje svojstvo penetracije u bakterijske biofilme, što može olakšati dolazak drugih antibiotika na ciljno mjesto djelovanja

5. u eri porasta rezistencije na antibiotike te ograničenog dolaska novih antibiotika na tržište sve je aktualniji trend primjene kombinacija antibiotika koje pokazuju sinergistički učinak

Potencijal sinergije fosfomicina s drugim antibioticima već je istraživani u nizu, pretežno *in vitro* studija, a interes za ovo područje proizlazi iz jedinstvenog mehanizma djelovanja fosfomicina. U većini je radova dokazana sinergija između fosfomicina i antibiotika koji (na nekom drugom koraku sinteze sloja peptidoglikana) također inhibiraju sintezu stanične stijenke, ali prvenstveno kod MRSA, *S. aureusa* i *Ps. aeruginosa*. Dostupan je samo jedan rad u kojem je dokazana sinergija fosfomicina i gentamicina kod *E. coli* i *K. pneumoniae*.

Međutim, idealno bi bilo kombinirati fosfomicin s nekim antimikrobnim lijekom koji se također primjenjuje *per os* i koji je *in vitro* u visokom postotku slučajeva učinkovit protiv ESBL patogena. Nadalje, potrebno je da mehanizam djelovanja bude različit od mehanizma djelovanja fosfomicina. Nitrofurantoin ispunjava sve navedene uvjete i u literaturi se navodi kao potencijalna opcija za liječenje urinarnih infekcija uzrokovanih ESBL bakterijskim sojevima.<sup>27</sup> Odlikuje ga visoka stopa *in vitro* osjetljivosti *E. coli* (u ovom je istraživanju stopa *in vitro* osjetljivosti ESBL izolata *E. coli* iznosila 73%), a mehanizam djelovanja je složen i višestruk, te nije do kraja istražen. Poznato je da inhibira više bakterijskih enzima Krebsovog ciklusa koji sudjeluju u metabolizmu ugljikohidrata, a također ometa sintezu bakterijskog staničnog zida.<sup>155</sup> Slično fosfomicinu, radi se o „starom“ antibiotiku koji je u kliničkoj praksi od 1952. godine te unatoč desetljećima upotrebe zadržava visoku stopu *in vitro* osjetljivosti urinarnih patogena, vjerojatno zbog svog složenog mehanizma djelovanja. Međusobne (nepovoljne farmakokinetske) interakcije fosfomicina i nitrofurantoina u literaturi se ne opisuju. Prije ispitivanja ovakve kombinacije u kliničkom ispitivanju, bilo bi potrebno *in vitro* ispitati sinergiju fosfomicina i nitrofurantoina kod ESBL sojeva *E. coli* i *K. pneumoniae*, budući da takvo istraživanje do sad nije provedeno. Tek je prema sažetom prikazu Walsh i Weeksa prikazana sinergija fosfomicina i nitrofurantoina kod 3/17 izolata NDM-1 (New Delhi metalo beta laktamaza 1) pozitivne *K. pneumoniae* i *E. coli*. Kod dodatnih 5/17 izolata dokazan je aditivni učinak.

Od ostalih potencijalno sinergističkih kombinacija dolazi u obzir paralelna primjena fosfomicina i ceftibutena, budući da je u ovom i u drugim radovima *in vitro* osjetljivost ESBL sojeva *E. coli* i *K. pneumoniae* bila razmjerno visoka. Također, na primjerima *in vitro* ispitivanja sinergije fosfomicina s drugim antibioticima kod MRSA-e i *Ps. aeruginosa* vidi se potencijal sinergije fosfomicina s antibioticima koji remete sintezu stanične stijenke. Međusobne (nepovoljne farmakokinetske) interakcije fosfomicina i ceftibutena u literaturi se ne opisuju. Slično kao i u primjeru nitrofurantoina, prije kliničkog ispitivanja ovaj bi koncept trebalo provjeriti *in vitro*.

Inovativna strategija u liječenju infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL sojevima *E. coli* i *K. pneumoniae* mogla bi se bazirati na kombiniranju fosfomicina s mukolitikom poput N-acetil cisteina. Takav bi pristup bio usmjeren prema uništavanju populacije sesilnih bakterija koje su sastavni dio biofilma, česte pojave kod infekcija urinarnog trakta. Naime, dok antibiotska terapija najčešće dovodi do povlačenja simptoma infekcije uništavanjem bakterija koje se otpuštaju s biofilma, često se ne uspijeva postići eradikacija sesilnih stanica ugrađenih u složeni biofilm koji se sastoji od vlastitog bakterijskog polimernog matriksa. Ova pojava ne odnosi se samo na infekcije urinarnog trakta povezanim s prisustvom urinarnog katetera, nego se često susreće i u slučajevima nekompliciranog cistitisa.<sup>51</sup> Navedeno je u skladu s opažanjem da su stope kliničkog izlječenja redovito (pa tako i u ovom istraživanju) veće od stopa mikrobiološkog izlječenja. Marchese i suradnici prikazali su još 2003. godine sinergiju fosfomicina i N-acetil cisteina na modelu arteficialno načinjenih filmova 4 različita soja *E. coli*<sup>52</sup>, ali do danas nije provedeno dobro dizajnirano kliničko ispitivanje kojim bi se potvrdio ili opovrgnuo ovaj koncept. Potencijalna strategija sastojala bi se u ambulantnoj višekratnoj primjeni fosfomicina (svaki drugi dan) u kombinaciji sa svakodnevnom primjenom N-acetil cisteina u eksperimentalnoj grupi, dok bi kontrolna grupa bila liječena samo sa fosfomicinom. Za razliku od visokih doza N-acetil cisteina koje se koriste u liječenju trovanja paracetamolom i koje su obilježene čestim nuspojavama, doze od 1200 mg dva puta dnevno dobro se podnose i vrlo rijetko izazivaju nuspojave.<sup>156</sup>

## 7. ZAKLJUČAK

Osnovni zaključak ove doktorske dizertacije jest da je doziranje fosfomicina u 3 doze kroz 5 dana u terapiji kompliciranih urinarnih infekcija uzrokovanih ESBL sojevima *E. coli* i *K. pneumoniae* značajno učinkovitije od jednokratnog doziranja fosfomicina. Navedeno vrijedi i za stopu mikrobiološkog i za stopu kliničkog izlječenja. Ipak, udio mikrobiološkog izlječenja u eksperimentalnoj grupi iznosio je (nedovoljnih) 53% pa slijedi da je kod bolesnika s više komplicirajućih faktora (posebno kod onih starije životne dobi s anamnezom rekurentnih infekcija urinarnog trakta) potrebno produžiti liječenje fosfomicinom, maksimalno do 3 tjedna. Druga strategija sastojala bi se u primjeni fosfomicina i nekog drugog antibiotika, uz prethodno dokazanu sinergiju *in vitro*. Ovo je područje neistraženo i u tom smislu su potrebna daljnja *in vitro* i klinička istraživanja.

Primjena jednokratne doze fosfomicina se u ovoj indikaciji pokazala neučinkovitom te ju ne treba koristiti. Razlika u udjelu mikrobiološkog i kliničkog izlječenja između 2 grupe statistički je i klinički značajna. Klinički odgovor na fosfomicin bio je u pravilu brz te je velika većina bolesnika imala potpunu regresiju dizurije već 1 dan nakon primjene 1. doze lijeka. Međutim, u kontrolnoj grupi bolesnika trajanje remisije je bilo kratko i u pravilu iznosilo svega nekoliko dana.

Ovo je ujedno i prvo istraživanje *in vitro* osjetljivosti ESBL sojeva *E. coli* i *K. pneumoniae* na fosfomicin u Republici Hrvatskoj. Rezultati su vezano uz testiranje *E. coli* ESBL komparabilni s rezultatima drugih istraživanja. Stopa osjetljivosti ESBL izolata *E. coli* je 100%, iz čega slijedi da se fosfomicin može kod osoba s anamnezom navedenih sojeva primjenjivati empirijski za liječenje infekcija urinarnog trakta. Navedena stopa osjetljivosti je značajno viša nego kod drugih testiranih peroralnih antibiotika i izjednačava se sa stopom osjetljivosti karbapenema.

Stopa osjetljivosti *K. pneumoniae* ESBL značajno je niža nego u većini drugih istraživanja i iznosi 45%, što se djelomično može objasniti korištenjem „strožih“ EUCAST-ovih graničnih vrijednosti MIK-a, dok su u većini drugih istraživanja korištene granične vrijednosti MIK-a prema CLSI standardima. Dodatno objašnjenje vjerojatno leži u činjenici da je većina izolata prikupljena u tercijskom centru, gdje su više stope rezistencije očekivane.

Fosfomicin se pokazao kao peroralni antibiotik s najvišom stopom osjetljivosti, gledajući ukupan broj svih ESBL izolata. Osam posto svih ESBL izolata bilo je osjetljivo samo na fosfomicin.

S obzirom odličnu stopu *in vitro* osjetljivosti ESBL sojeva *E. coli* na fosfomicin te na dobre rezultate kliničke učinkovitosti, buduća bi istraživanja trebala biti usmjerena na prospektivno randomizirano ispitivanje učinkovitosti fosfomicina u

usporedbi s karbapenemima. Budući da je eliminacija fosfomicina iz organizma jednostavna te da se lijek dobro podnosi, moglo bi ga se primijeniti u još dužoj shemi doziranja ili u kombinaciji s nekim drugim antibiotikom za kojeg se dokaže sinergističko djelovanje s fosfomicinom.

## 8. SAŽETAK

U eri porasta rezistencije na antibiotike, ESBL bakterijski sojevi predstavljaju značajan terapijski problem. Zbog toga posljednjih godina raste interes za istraživanjem starijih antibiotika poput fosfomicina, posebno zbog njegove oralne primjene i niske cijene. Temeljna hipoteza ove dizertacije, u skladu s dosadašnjim istraživanjima bila je da doziranje fosfomicina po shemi 3 g svaki drugi dan kroz 5 dana u značajno većem postotku slučajeva dovodi do izlječenja kompliciranih infekcija urinarnog trakta, u odnosu na jednokratnu primjenu fosfomicina, gledajući stope mikrobiološkog i kliničkog izlječenja. Također je bilo pretpostavljeno da je fosfomicin klinički učinkovita terapija u liječenju ovih infekcija. Obje su hipoteze potvrđene rezultatima ovog prospektivnog kliničkog ispitivanja. Konačno, utvrđena je pretpostavljena izrazito visoka *in vitro* osjetljivost ESBL sojeva *E. coli* na fosfomicin, što omogućava empirijsku primjenu, dok je stopa osjetljivosti ESBL sojeva *K. pneumoniae* bila značajno niža. Buduća klinička istraživanja u ovom području vjerojatno bi trebala biti usmjerena na ispitivanje još dužih terapijskih shema doziranja fosfomicina ili upotrebu kombinacija antibiotika s različitim mehanizmom djelovanja, poput fosfomicina i nitrofurantoina.



## 9. SUMMARY

### Luka Bielen

Prospective controlled clinical trial of different fosfomycin dose regimens in the treatment of urinary tract infections caused by extended spectrum beta lactamase producing strains of *E. coli* and *K. pneumoniae*

In the era of rising antibiotic resistance rates, bacterial ESBL producing strains represent a major therapeutic problem. Hence, during the last years there is a growing interest in the investigation of older antibiotics like fosfomycin, especially due to its' oral route of administration and low cost. The main hypothesis of this doctoral thesis, in concordance with previous research, was that fosfomycin dose regimen in three divided doses during five days compared to a single dose, leads to better treatment outcomes of complicated urinary tract infections, in terms of both microbiological and clinical cure rates. It has also been assumed that fosfomycin is an effective treatment option for these infections. Both hypotheses have been confirmed by the results of this prospective clinical trial. Lastly, assumed extremely high *in vitro* susceptibility to fosfomycin of ESBL *E. coli* strains has been demonstrated, which enables empirical fosfomycin use, whereas *in vitro* sensitivity of ESBL *K. pneumoniae* strains was much lower. Future clinical research in this field should probably be directed to even more prolonged clinical courses of fosfomycin or the use of antibiotic combinations with different mechanisms of action, such as fosfomycin and nitrofurantoin.

2014.

## 10. POPIS LITERATURE

1. Hooton TM. Acute complicated cystitis and pyelonephritis. UpToDate Waltham, MA: UpToDate 2014.
2. Njoku J. Fosfomycin: review and use criteria. The Nebraska medical center:1-12.
3. Hall BG, Barlow M. Evolution of the serine  $\beta$ -lactamases: past, present and future. Drug resistance updates 2004;7:111-123.
4. Bradford PA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001;14:933-951.
5. Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new  $\beta$ -lactamases. N Engl J Med 2005;352:380-391.
6. Fircanis S, McKay M. Recognition and management of extended spectrum beta lactamase producing organisms (ESBL). Med Health R I 2010;93:161-162.
7. Cooksey R, Swenson J, Clark N, Gay E, Thornsberry C. Patterns and mechanisms of beta-lactam resistance among isolates of *Escherichia coli* from hospitals in the United States. Antimicrob Agents Chemother 1990;34:739-745.
8. Medeiros AA. Evolution and dissemination of  $\beta$ -lactamases accelerated by generations of  $\beta$ -lactam antibiotics. Clin Infect Dis 1997;24:S19-S45.
9. Ambler R. The Structure of  $\beta$ -Lactamases. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B, Biological Sciences 1980;289:321-331.
10. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995;39:1211.
11. Wiener J, Quinn JP, Bradford PA i sur. Multiple antibiotic-resistant *Klebsiella* and *Escherichia coli* in nursing homes. JAMA 1999;281:517-523.
12. Knox JR. Extended-spectrum and inhibitor-resistant TEM-type beta-lactamases: mutations, specificity, and three-dimensional structure. Antimicrob Agents Chemother 1995;39:2593.
13. Sirot D, Recule C, Chaibi E i sur. A complex mutant of TEM-1 beta-lactamase with mutations encountered in both IRT-4 and extended-spectrum TEM-15, produced by an *Escherichia coli* clinical isolate. Antimicrob Agents Chemother 1997;41:1322-1325.
14. Kuzin A, Nukaga M, Nukaga Y, Hujer A, Bonomo R, Knox J. 547 1999. Structure of the SHV-1 beta-lactamase. Biochemistry (Mosc);38:5720-5727.
15. Naas T, Nordmann P. OXA-type beta-lactamases. Curr Pharm Des 1999;5:865-879.
16. Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-determined AmpC-type  $\beta$ -lactamases. Antimicrob Agents Chemother 2002;46:1-11.
17. Jacoby GA. AmpC beta-lactamases. Clin Microbiol Rev 2009;22:161-182, Table of Contents.
18. Tzouveleakis L, Markogiannakis A, Psychogiou M, Tassios P, Daikos G. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. Clin Microbiol Rev 2012;25:682-707.
19. Ben-Ami R, Rodriguez-Bano J, Arslan H i sur. A multinational survey of risk factors for infection with extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae in nonhospitalized patients. Clin Infect Dis 2009;49:682-690.
20. Garcia-Hernandez AM, Garcia-Vazquez E, Hernandez-Torres A i sur. [Bacteraemia due to *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBL): clinical relevance and today's insights]. Rev Esp Quimioter 2011;24:57-66.
21. Yang Y-S, Ku C-H, Lin J-C i sur. Impact of Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* on the Outcome of Community-onset Bacteremic Urinary Tract Infections. J Microbiol Immunol Infect 2010;43:194-199.

22. Colodner R, Rock W, Chazan B i sur. Risk factors for the development of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in nonhospitalized patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004;23:163-167.
23. Talbot GH, Bradley J, Edwards JE, Gilbert D, Scheld M, Bartlett JG. Bad bugs need drugs: an update on the development pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2006;42:657-668.
24. Popovic M, Steinort D, Pillai S, Joukhadar C. Fosfomycin: an old, new friend? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010;29:127-142.
25. Colgan R, Williams M. Diagnosis and treatment of acute uncomplicated cystitis. *Am Fam Physician* 2011;84:771-776.
26. Zilberberg MD, Shorr AF. Secular trends in gram-negative resistance among urinary tract infection hospitalizations in the United States, 2000-2009. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2013;34:940-946.
27. Garau J. Other antimicrobials of interest in the era of extended-spectrum beta-lactamases: fosfomycin, nitrofurantoin and tigecycline. *Clin Microbiol Infect* 2008;14 Suppl 1:198-202.
28. Naber KG, Schito G, Botto H, Palou J, Mazzei T. Surveillance study in Europe and Brazil on clinical aspects and antimicrobial resistance epidemiology in females with cystitis (ARESC): implications for empiric therapy. *Eur Urol* 2008;54:1164-1178.
29. Arslan H, Azap ÖK, Ergönül Ö, Timurkaynak F. Risk factors for ciprofloxacin resistance among *Escherichia coli* strains isolated from community-acquired urinary tract infections in Turkey. *J Antimicrob Chemother* 2005;56:914-918.
30. Hawser S, Bouchillon S, Lascols C i sur. Susceptibility of European *Escherichia coli* clinical isolates from intra-abdominal infections, extended-spectrum  $\beta$ -lactamase occurrence, resistance distribution, and molecular characterization of ertapenem-resistant isolates (SMART 2008–2009). *Clinical Microbiology and Infection* 2012;18:253-259.
31. EARSS data; <http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net/Pages/index.aspx>;
32. Munoz-Price SL, Jacoby GA. Extended-spectrum beta-lactamases UpToDate Waltham, MA: UpToDate 2014.
33. Hendlin D, Stapley E, Jackson M i sur. Phosphonomycin, a new antibiotic produced by strains of *Streptomyces*. *Science* 1969;166:122-123.
34. Andrews J, Baquero F, Beltran J i sur. International collaborative study on standardization of bacterial sensitivity to fosfomycin. *J Antimicrob Chemother* 1983;12:357-361.
35. Kahan FM, Kahan JS, Cassidy PJ, Kropp H. The mechanism of action of fosfomycin (phosphonomycin). *Ann N Y Acad Sci* 1974;235:364-386.
36. Keating GM. Fosfomycin trometamol: a review of its use as a single-dose oral treatment for patients with acute lower urinary tract infections and pregnant women with asymptomatic bacteriuria. *Drugs* 2013;73:1951-1966.
37. MacLeod DL, Velayudhan J, Kenney TF i sur. Fosfomycin enhances the active transport of tobramycin in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:1529-1538.
38. Pfausler B, Spiss H, Dittrich P, Zeitlinger M, Schmutzhard E, Joukhadar C. Concentrations of fosfomycin in the cerebrospinal fluid of neurointensive care patients with ventriculostomy-associated ventriculitis. *J Antimicrob Chemother* 2004;53:848-852.
39. Reeves D, Holt H, Bywater M. *In vitro* study of fosfomycin trometamol. *New trends in urinary tract infections Basle: Karger* 1988:224-231.
40. Mazzei T, Cassetta MI, Fallani S, Arrigucci S, Novelli A. Pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects of antimicrobial agents for the treatment of uncomplicated urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents* 2006;28:35-41.

41. Raz R. Fosfomycin: an old—new antibiotic. *Clinical Microbiology and Infection* 2012;18:4-7.
42. Falagas M, Kanellopoulou M, Karageorgopoulos D i sur. Antimicrobial susceptibility of multidrug-resistant Gram negative bacteria to fosfomycin. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008;27:439-443.
43. Pogue JM, Marchaim D, Abreu-Lanfranco O i sur. Fosfomycin activity versus carbapenem-resistant Enterobacteriaceae and vancomycin-resistant *Enterococcus*, Detroit, 2008–10. *The Journal of antibiotics* 2013.
44. MacGowan A, Holt H, Bywater M, Reeves D. *In vitro* antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated in the UK and other *Listeria* species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990;9:767-770.
45. MacLeod DL, Barker LM, Sutherland JL i sur. Antibacterial activities of a fosfomycin/tobramycin combination: a novel inhaled antibiotic for bronchiectasis. *J Antimicrob Chemother* 2009:dkp282.
46. Yamada S, Hyo Y, Ohmori S, Ohuchi M. Role of ciprofloxacin in its synergistic effect with fosfomycin on drug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Chemotherapy* 2007;53:202-209.
47. Figueredo VM, Neu HC. Synergy of ciprofloxacin with fosfomycin in vitro against *Pseudomonas* isolates from patients with cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother* 1988;22:41-50.
48. Gudiol F. S55 Facts and myths about fosfomycin. *Int J Antimicrob Agents* 2007;29:S12-S13.
49. Olay T, Rodriguez A, Oliver L, Vicente M, Quecedo M. Interaction of fosfomycin with other antimicrobial agents: in vitro and in vivo studies. *J Antimicrob Chemother* 1978;4:569-576.
50. Kastoris AC, Rafailidis PI, Vouloumanou EK, Gkegkes ID, Falagas ME. Synergy of fosfomycin with other antibiotics for Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Eur J Clin Pharmacol* 2010;66:359-368.
51. Prince AS. Biofilms, antimicrobial resistance, and airway infection. *The New England journal of medicine* 2002;347:1110.
52. Marchese A, Bozzolasco M, Gualco L, Debbia EA, Schito GC, Schito AM. Effect of fosfomycin alone and in combination with *N*-acetylcysteine on *E. coli* biofilms. *Int J Antimicrob Agents* 2003;22:95-100.
53. Summary of Product Characteristics - Monuril (fosfomycin trometamol) 2014.
54. Bergan T. Degree of absorption, pharmacokinetics of fosfomycin trometamol and duration of urinary antibacterial activity. *Infection* 1990;18:S65-S69.
55. Patel SS, Balfour JA, Bryson HM. Fosfomycin tromethamine. *Drugs* 1997;53:637-656.
56. Shrestha NK, Tomford JW. Fosfomycin: a review. *Infectious Diseases in Clinical Practice* 2001;10:255-260.
57. Naber K, Thyroff-Friesinger U. Fosfomycin trometamol versus ofloxacin/co-trimoxazole as single dose therapy of acute uncomplicated urinary tract infection in females: a multicentre study. *Infection* 1990;18:S70-S76.
58. Segre G, Bianchi E, Cataldi A, Zannini G. Pharmacokinetic profile of fosfomycin trometamol (Monuril). *Eur Urol* 1986;13:56-63.
59. Janknegt R, Hooymans P, Fabius G i sur. Urinary concentrations of fosfomycin after a single 3 g dose of fosfomycin to elderly nursing-home patients. *Pharm World Sci* 1994;16:149-153.
60. Scaglione F, Cicchetti F, Demartini G, Arcidiacono M. Fosfomycin distribution in the lower urinary tract after administration of fosfomycin trometamol salt. *Int J Clin Pharmacol Res* 1993;14:107-109.
61. Kestle DG, Kirby W. Clinical pharmacology and in vitro activity of phosphonomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 1969;9:332.

62. Gattringer R, Meyer B, Heinz G i sur. Single-dose pharmacokinetics of fosfomycin during continuous venovenous haemofiltration. *J Antimicrob Chemother* 2006;58:367-371.
63. Kwan K, Wadke D, Foltz E. Pharmacokinetics of fosfomycin in man I: Intravenous administration. *J Pharm Sci* 1971;60:678-685.
64. Parker S, Lipman J, Koulenti D, Dimopoulos G, Roberts JA. What is the relevance of fosfomycin pharmacokinetics in the treatment of serious infections in critically ill patients? A systematic review. *Int J Antimicrob Agents* 2013;42:289-293.
65. Fillastre J, Leroy A, Josse S, Moulin B. Étude pharmacocinétique du trométamol-fosfomycine chez les malades insuffisants rénaux. *Pathol Biol (Paris)* 1988;36:728-730.
66. Naber KG, Thomas P, Fünfstück R. Fosfomycin trometamol in patients with renal insufficiency and in the elderly. *The International Arabic Journal of Antimicrobial Agents* 2012;2.
67. Grabe M, Bjerklund-Johansen T, Botto H i sur. Guidelines on urological infections. *European association of urology* 2010;110.
68. Gupta K, Hooton TM, Naber KG i sur. 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:e103-e120.
69. Gupta K, Hooton TM, Stamm WE. Isolation of fluoroquinolone-resistant rectal *Escherichia coli* after treatment of acute uncomplicated cystitis. *J Antimicrob Chemother* 2005;56:243-246.
70. Denes E, Prouzergue J, Ducroix-Roubertou S, Aupetit C, Weinbreck P. Antibiotic prescription by general practitioners for urinary tract infections in outpatients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31:3079-3083.
71. Reeves DS. Fosfomycin trometamol. *J Antimicrob Chemother* 1994;34:853-858.
72. Sádaba-Díaz dRB, Azanza-Perea JR, Garcia-Quetglas E, Honorato-Perez J. Fosfomycin trometamol: multiple-dose regimen for the treatment of lower urinary tract infections. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2006;24:546-550.
73. Bonfiglio G, Mattina R, Lanzafame A, Cammarata E, Tempera G. Fosfomycin trometamol in uncomplicated urinary tract infections: a clinical study. *Chemotherapy* 2005;51:162-166.
74. Stein GE. Comparison of single-dose fosfomycin and a 7-day course of nitrofurantoin in female patients with uncomplicated urinary tract infection.
75. Crocchiolo P. Single-dose fosfomycin trometamol versus multiple-dose cotrimoxazole in the treatment of lower urinary tract infections in general practice. *Chemotherapy* 1990;36:37-40.
76. Bozkurt O, Kara C, Akarsu S. Comparison efficacy of single dose fosfomycin with ciprofloxacin in the treatment of urinary tract infection in symptomatic women. *Turk Uroloji Dergisi* 2008;34:360-362.
77. Reynaert J, Van Eyck D, Vandepitte J. Single dose fosfomycin trometamol versus multiple dose norfloxacin over three days for uncomplicated UTI in general practice. *Infection* 1990;18:S77-S79.
78. De Jong Z, Pontonnier F, Plante P. Single-dose fosfomycin trometamol (Monuril) versus multiple-dose norfloxacin: results of a multicenter study in females with uncomplicated lower urinary tract infections. *Urol Int* 1991;46:344-348.
79. Ferraro G, Ambrosi G, Bucci L, Palmieri R, Palmieri G. Fosfomycin trometamol versus norfloxacin in the treatment of uncomplicated lower urinary tract infections of the elderly. *Chemotherapy* 1990;36:46-49.
80. Falagas ME, Vouloumanou EK, Togiag AG i sur. Fosfomycin versus other antibiotics for the treatment of cystitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Antimicrob Chemother* 2010;65:1862-1877.

81. Nicolle LE. Asymptomatic bacteriuria. Current opinion in infectious diseases 2014;27:90-96.
82. Reeves D. Treatment of bacteriuria in pregnancy with single dose fosfomycin trometamol: a review. Infection 1992;20:S313-S316.
83. Bayrak Ö, Çimentepe E, İnegöl İ i sur. Is single-dose fosfomycin trometamol a good alternative for asymptomatic bacteriuria in the second trimester of pregnancy? International Urogynecology Journal 2007;18:525-529.
84. Estebanez A, Pascual R, Gil V, Ortiz F, Santibanez M, Barba CP. Fosfomycin in a single dose versus a 7-day course of amoxicillin–clavulanate for the treatment of asymptomatic bacteriuria during pregnancy. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2009;28:1457-1464.
85. Krcmery S, Hromec J, Demesova D. Treatment of lower urinary tract infection in pregnancy. Int J Antimicrob Agents 2001;17:279-282.
86. Usta TA, Dogan O, Ates U, Yucel B, Onar Z, Kaya E. Comparison of single-dose and multiple-dose antibiotics for lower urinary tract infection in pregnancy. International Journal of Gynecology & Obstetrics 2011;114:229-233.
87. Periti P, Novelli A, Reali E, Lamanna S, Fontana P. Prophylactic chemotherapy with fosfomycin trometamol salt during transurethral prostatic surgery: a controlled multicenter clinical trial. Eur Urol 1986;13:122-131.
88. Pullukcu H, Tasbakan M, Sipahi OR, Yamazhan T, Aydemir S, Ulusoy S. Fosfomycin in the treatment of extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* related lower urinary tract infections. Int J Antimicrob Agents 2007;29:62-65.
89. Senol S, Tasbakan M, Pullukcu H i sur. Carbapenem versus fosfomycin tromethanol in the treatment of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*-related complicated lower urinary tract infection. J Chemother 2010;22:355-357.
90. Shrestha NK, Amuh D, Goldman MP, Riebel WJ, Tomford WJ. Treatment of a complicated vancomycin-resistant enterococcal urinary tract infection with fosfomycin. Infectious Diseases in Clinical Practice 2000;9:368-371.
91. Ode B, Haidl S, Hoffstedt B, Walder M, Ursing J. Fosfomycin versus ampicillin in the treatment of acute pyelonephritis. Chemioterapia: international journal of the Mediterranean Society of Chemotherapy 1988;7:96-100.
92. Rudenko N, Dorofeyev A. Prevention of recurrent lower urinary tract infections by long-term administration of fosfomycin trometamol. Double blind, randomized, parallel group, placebo controlled study. Arzneimittelforschung 2004;55:420-427.
93. Ruxer J, Moždžan M, Siejka A, Loba J, Markuszewski L. Fosfomycin and nitrofurantoin in the treatment of recurrent urinary tract infections in type 2 diabetic women: a preliminary report. Diabetologia Doświadczalna i Kliniczna 2006;6:277-276.
94. Falagas ME, Giannopoulou KP, Kokolakis GN, Rafailidis PI. Fosfomycin: use beyond urinary tract and gastrointestinal infections. Clin Infect Dis 2008;46:1069-1077.
95. Legat F, Maier A, Dittrich P i sur. Penetration of fosfomycin into inflammatory lesions in patients with cellulitis or diabetic foot syndrome. Antimicrob Agents Chemother 2003;47:371-374.
96. Meissner A, Rahmanzadeh R, Haag R. Adjuvant fosfomycin medication in chronic osteomyelitis. Infection 1989;17:146-151.
97. Joukhadar C, Klein N, Dittrich P i sur. Target site penetration of fosfomycin in critically ill patients. J Antimicrob Chemother 2003;51:1247-1252.
98. Pfeifer G, Frenkel C, Entzian W. Pharmacokinetic aspects of cerebrospinal fluid penetration of fosfomycin. Int J Clin Pharmacol Res 1984;5:171-174.
99. Sicilia T, Estevez E, Rodriguez A. Fosfomycin penetration into the cerebrospinal fluid of patients with bacterial meningitis. Chemotherapy 1981;27:405-413.
100. Philipp W, Kofler J. Untersuchung des Penetrationsvermögens von Fosfomycin in das Kammerwasser und den Glaskörper des Auges\*. Klin Monatsbl Augenheilkd 1986;189:240-242.

101. Shimada K, Kudoh S, Hayashi I i sur. [Clinical usefulness of the combined empirical therapy with flomoxef and fosfomycin for intractable respiratory tract infections. With a background of increasing MRSA incidence]. *The Japanese journal of antibiotics* 1994;47:1299-1304.
102. Lebreton P, Vergnaud M, Zerr C, Nigam M, Kaladji C, Quesnel J. [Antibiotic prophylaxis using a combination of pefloxacin and fosfomycin in heart surgery with CEC (extracorporeal circulation) in patients allergic to beta-lactams]. *Cahiers d'anesthesiologie* 1988;37:77-87.
103. Rodriguez A, Vicente M, Olay T. Experimental endocarditis and fosfomycin. *Drugs Exp Clin Res* 1984;11:55-62.
104. Mayama T, Yokota M, Shimatani I, Ohyagi H. Analysis of oral fosfomycin calcium (Fosmicin) side-effects after marketing. *International journal of clinical pharmacology, therapy, and toxicology* 1993;31:77-82.
105. Katznelson D, Yahav Y, Rubinstein E. Fosfomycin in the treatment of cystic fibrosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1984;3:213-213.
106. Arca P, Reguera G, Hardisson C. Plasmid-encoded fosfomycin resistance in bacteria isolated from the urinary tract in a multicentre survey. *J Antimicrob Chemother* 1997;40:393-399.
107. Schito G. Why fosfomycin trometamol as first line therapy for uncomplicated UTI? *Int J Antimicrob Agents* 2003;22:79-83.
108. Alos J, Garcia-Pena P, Tamayo J. [Biological cost associated with fosfomycin resistance in *Escherichia coli* isolates from urinary tract infections]. *Revista espanola de quimioterapia: publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia* 2007;20:211-215.
109. Nilsson AI, Berg OG, Aspevall O, Kahlmeter G, Andersson DI. Biological costs and mechanisms of fosfomycin resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:2850-2858.
110. Oteo J, Bautista V, Lara N i sur. Parallel increase in community use of fosfomycin and resistance to fosfomycin in extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother* 2010;65:2459-2463.
111. Karageorgopoulos DE, Wang R, Yu X-h, Falagas ME. Fosfomycin: evaluation of the published evidence on the emergence of antimicrobial resistance in Gram-negative pathogens. *J Antimicrob Chemother* 2012;67:255-268.
112. Arca P, Hardisson C, Suarez J. Purification of a glutathione S-transferase that mediates fosfomycin resistance in bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 1990;34:844-848.
113. Mendoza C, Garcia J, Llana J, Mendez F, Hardisson C, Ortiz J. Plasmid-determined resistance to fosfomycin in *Serratia marcescens*. *Antimicrob Agents Chemother* 1980;18:215-219.
114. Arca P, Rico M, Brana A, Villar C, Hardisson C, Suarez J. Formation of an adduct between fosfomycin and glutathione: a new mechanism of antibiotic resistance in bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 1988;32:1552-1556.
115. Etienne J, Gerbaud G, Courvalin P, Fleurette J. Plasmid-mediated resistance to fosfomycin in *Staphylococcus epidermidis*. *FEMS Microbiol Lett* 1989;61:133-138.
116. Pogue JM, Marchaim D, Kaye D, Kaye KS. Revisiting "older" antimicrobials in the era of multidrug resistance. *Pharmacotherapy* 2011;31:912-921.
117. Ungheri D, Albini E, Belluco G. In-vitro susceptibility of quinolone-resistant clinical isolates of *Escherichia coli* to fosfomycin trometamol. *J Chemother* 2002;14:237-240.
118. Ceran N, Adaleti R, Nakipoglu Y. In vitro susceptibility of quinolone-resistant *Escherichia coli* isolates with and without producing extended-spectrum beta-lactamase to fosfomycin trometamol. *19th European Conference of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2009.
119. Karlowsky JA, Adam H, Baxter M 53rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy 10-13 2013.

120. Pullukcu H, Aydemir SŞ, Tasbakan MI, Sipahi OR, HALL JR FFÇ, Tunger A. Is there a rise in resistance rates to fosfomycin and other commonly used antibiotics in *Escherichia coli*-mediated urinary tract infections? A perspective for 2004–2011. Turkish Journal of Medical Sciences 2013;43:537-541.
121. Honderlick P, Cahen P, Gravisse J, Vignon D. [Uncomplicated urinary tract infections, what about fosfomycin and nitrofurantoin in 2006?]. Pathologie-biologie 2005;54:462-466.
122. Falagas ME, Maraki S, Karageorgopoulos DE, Kastoris AC, Mavromanolakis E, Samonis G. Antimicrobial susceptibility of multidrug-resistant (MDR) and extensively drug-resistant (XDR) Enterobacteriaceae isolates to fosfomycin. Int J Antimicrob Agents 2010;35:240-243.
123. Maraki S, Samonis G, Rafailidis PI, Vouloumanou EK, Mavromanolakis E, Falagas ME. Susceptibility of urinary tract bacteria to fosfomycin. Antimicrob Agents Chemother 2009;53:4508-4510.
124. Neuner EA, Sekeres J, Hall GS, van Duin D. Experience with fosfomycin for treatment of urinary tract infections due to multidrug-resistant organisms. Antimicrob Agents Chemother 2012;56:5744-5748.
125. Meier S, Weber R, Zbinden R, Ruef C, Hasse B. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Gram-negative pathogens in community-acquired urinary tract infections: an increasing challenge for antimicrobial therapy. Infection 2011;39:333-340.
126. Araj G, Jaber F. In vitro activity of fosfomycin and other antimicrobials against uropathogenic *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* at a tertiary care center in Lebanon. Le Journal medical libanais The Lebanese medical journal 2011;60:142-147.
127. Lee S-Y, Park Y-J, Yu JK i sur. Prevalence of acquired fosfomycin resistance among extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in Korea and IS26-composite transposon surrounding fosA3. J Antimicrob Chemother 2012;67:2843-2847.
128. Al-Zarouni M, Senok A, Al-Zarooni N, Al-Nassay F, Panigrahi D. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: In vitro Susceptibility to Fosfomycin, Nitrofurantoin and Tigecycline. Med Princ Pract 2012;21:543-547.
129. Ellington MJ, Livermore DM, Pitt TL, Hall LM, Woodford N. Mutators among CTX-M  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and risk for the emergence of fosfomycin resistance. J Antimicrob Chemother 2006;58:848-852.
130. Liu H-Y, Lin H-C, Lin Y-C, Yu S-h, Wu W-H, Lee Y-J. Antimicrobial susceptibilities of urinary extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* to fosfomycin and nitrofurantoin in a teaching hospital in Taiwan. J Microbiol Immunol Infect 2011;44:364-368.
131. Auer S, Wojna A, Hell M. Oral treatment options for ambulatory patients with urinary tract infections caused by extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother 2010;54:4006-4008.
132. Chislett RJ, White G, Hills T, Turner DP. Fosfomycin susceptibility among extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Nottingham, UK. J Antimicrob Chemother 2010;65:1076-1077.
133. Hutley E, Chand M, Hounsoume G, Kelsey M. Fosfomycin: An oral agent for urinary infection caused by extended spectrum beta-lactamase producing organisms. J Infect 2010;60:308-309.
134. Hoşbul T, Ozyurt M, Baylan O i sur. In vitro activity of fosfomycin trometamol in the treatment of *Escherichia coli* related uncomplicated urinary tract infections. Mikrobiyol Bul 2009;43:645-649.
135. Prakash V, Lewis JS, 2nd, Herrera ML, Wickes BL, Jorgensen JH. Oral and parenteral therapeutic options for outpatient urinary infections caused by enterobacteriaceae producing CTX-M extended-spectrum beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 2009;53:1278-1280.



136. De Cueto M, López L, Hernández J, Morillo C, Pascual A. *In vitro* activity of fosfomycin against extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: comparison of susceptibility testing procedures. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:368-370.
137. Falagas ME, Kastoris AC, Kapaskelis AM, Karageorgopoulos DE. Fosfomycin for the treatment of multidrug-resistant, including extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing, Enterobacteriaceae infections: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2010;10:43-50.
138. Cox CE, Holloway WJ, Geckler RW. A multicenter comparative study of meropenem and imipenem/cilastatin in the treatment of complicated urinary tract infections in hospitalized patients. *Clin Infect Dis* 1995;21:86-92.
139. Elhanan G, Tabenkin H, Yahalom R, Raz R. Single-dose fosfomycin trometamol versus 5-day cephalexin regimen for treatment of uncomplicated lower urinary tract infections in women. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:2612-2614.
140. Rodriguez-Bano J, Alcalá JC, Cisneros JM i sur. Community infections caused by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Arch Intern Med* 2008;168:1897-1902.
141. Testing ECoAS 2014.
142. Cockerill FR, Clinical, Institute LS Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-second informational supplement. (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2012).
143. Meyrier A. Sampling and evaluation of voided urine in the diagnosis of urinary tract infection in adults UpToDate Waltham, MA: UpToDate 2014.
144. Fekete T. Catheter-associated urinary tract infection in adults UpToDate Waltham, MA: UpToDate 2014.
145. Škerk V, Andrašević AT, Andrašević S i sur. ISKRA smjernice antimikrobnog liječenja i profilakse infekcija mokraćnog sustava–hrvatske nacionalne smjernice. VI hrvatski simpozij o rezistenciji bakterija na antibiotike 2009.
146. Fairley K, Carson N, Gutch RC i sur. Site of infection in acute urinary-tract infection in general practice. *The Lancet* 1971;298:615-618.
147. Francetić I, Vitezić D. Klinička farmakologija. (Medicinska naklada, 2014).
148. Rubin RH, Shapiro ED, Andriole VT, Davis RJ, Stamm WE. Evaluation of new anti-infective drugs for the treatment of urinary tract infection. *Clin Infect Dis* 1992;15:S216-S227.
149. Hamill RJ, Wright CE, Andres N, Koza MA. Urinary tract infection following instrumentation for urodynamic testing. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1989;26-32.
150. Hooton TM, Gupta K. Recurrent urinary tract infection in women UpToDate Waltham, MA: UpToDate 2014.
151. Wells WG, Woods GL, Jiang Q, Gesser RM. Treatment of complicated urinary tract infection in adults: combined analysis of two randomized, double-blind, multicentre trials comparing ertapenem and ceftriaxone followed by appropriate oral therapy. *J Antimicrob Chemother* 2004;53:ii67-ii74.
152. Inouye S, Niizato T, Komiya I, Yuda Y, Yamada Y. Mode of protective action of fosfomycin against dibekacin-induced nephrotoxicity in the dehydrated rats. *J Pharmacobiodyn* 1982;5:941-950.
153. Yoshiyama Y, Yazaki T, Wong PC, Beauchamp D, Kanke M. The effect of fosfomycin on glycopeptide antibiotic-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of infection and chemotherapy* 2001;7:243-246.
154. Leach JL, Wright CG, Edwards LB, Meyerhoff WL. Effect of topical fosfomycin on polymyxin B ototoxicity. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery* 1990;116:49-53.
155. Munoz-Davila MJ. Role of Old Antibiotics in the Era of Antibiotic Resistance. Highlighted Nitrofurantoin for the Treatment of Lower Urinary Tract Infections. *Antibiotics* 2014;3:39-48.

156. Millea PJ. N-acetylcysteine: multiple clinical applications. *Am Fam Physician* 2009;80:265-269.

## 11. ŽIVOTOPIS

Luka Bielen rođen je 8.10.1981. godine u Zagrebu, gdje je završio osnovnu školu i opću gimnaziju. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisao je 2000. godine, a diplomirao 2007. godine. Kao student bio je dobitnik tada najviše rangirane stipendije u Republici Hrvatskoj – „Top stipendija za top studente“. Obvezni pripravnički staž završio je u Kliničkom bolničkom centru Zagreb, a državni ispit pri Ministarstvu zdravlja položio je 2008. godine. U srpnju 2007. godine upisao je doktorski poslijediplomski studij Biomedicina i zdravstvo te ga završava 2014. godine. Od 2007. godine do danas radi kao znanstveni novak na Katedri za internu medicinu na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, pod mentorsvom prof. dr. sc. Igora Francetića, pri projektu „Modifikacija antimikrobne terapije i rezistencija patogenih mikroorganizama“. U okviru navedenog projekta razvio je interes za probleme vezane za bakterijsku rezistenciju i primjenu antibiotika te je iz tog područja prijavio temu doktorske dizertacije. Kao znanstveni novak 2010. godine započeo je staž liječnika specijalizanta iz opće interne medicine u Kliničkom bolničkom centru Zagreb te specijalistički ispit položio 17.12.2014. Tijekom specijalizacije 2013. godine završio je stručni poslijediplomski studij Klinička farmakologija s toksikologijom. Autor je 7 znanstvenih radova i aktivni član Hrvatskog društva za kliničku farmakologiju i terapiju. Luka Bielen oženjen je i otac troje djece.

## 12. PRILOZI

KLINIČKI BOLNIČKI CENTAR ZAGREB  
KLINIKA ZA UNUTARNJE BOLESTI REBRO  
ZAGREB-Kišpatićeva 12  
Zavod za kliničku farmakologiju  
Tel 2388 - 275  
Pročelnik Zavoda: prof. dr. sc. Igor Francetić

**INFORMACIJA I INFORMIRANI PRISTANAK BOLESNIKA  
ZA  
SUDJELOVANJE U ISPITIVANJU UČINKOVITOSTI RAZLIČITIH  
SHEMA DOZIRANJA FOSFOMICINA U LIJEČENJU INFEKCIJA  
URINARNOG TRAKTA UZROKOVANIH BAKTERIJAMA KOJE  
PROIZVODE BETA LAKTAMAZE PROŠIRENOG SPEKTRA**

Poštovana gospođo \_\_\_\_\_

Poštovani gospodine \_\_\_\_\_

Bolujete od upale mokraćnog sustava uzrokovane multirezistentnom bakterijom koja proizvodi beta laktamazu proširenog spektra. Radi se o enzimu koji ima sposobnost inaktivacije antibiotika koji se uobičajeno koriste za liječenje urinarnih infekcija. Zbog toga se ovu vrstu urinarnih bakterija često tretira antibioticima iz skupine karbapenema, koji se međutim mogu primjenjivati jedino parenteralno (u venu), zbog čega se terapiju provodi u bolnici. Zbog navedenog se sve više ispituje učinkovitost antibiotika koji se primjenjuju peroralno (na usta), često i starijih antibiotika, za koje se na temelju dosadašnjih istraživanja može pretpostaviti učinkovito djelovanje protiv spomenutih sojeva bakterija. Jedan od takvih antibiotika je i fosfomicin (zaštićeni tvornički naziv Monuril), koji je otkriven 1969. godine i već je desetljećima u kliničkoj upotrebi za liječenje upale mokraćnog mjehura. Radi se o antibiotiku koji se uglavnom vrlo dobro podnosi, čije su najčešće nuspojave glavobolja, vrtoglavica, proljev i mučnina, a mogu ga uzimati i trudnice. Dobro je poznato učinkovito djelovanje ovog antibiotika protiv bakterija poput one koja je izolirana u Vašem uzorku urina. Navedeno je dokazano u više radova in vitro (laboratorijskim) ispitivanjima. Također su pozitivna i početna klinička iskustva liječenja infekcija mokraćnog sustava uzrokovanih ovim multirezistentnim

uzročnicima fosfomicinom – u najvećem dosadašnjem istraživanju 79% bolesnika imalo je sterilnu urinokulturu nakon terapije.

U ovom ispitivanju će se primijeniti lijek fosfomicin (Monuril) kojeg će jedna grupa bolesnika primiti jednokratno, a druga grupa u 3 doze (svaki drugi dan jedna doza, kroz 5 dana). Prije početka terapije, dati ćete jedan uzorak mokraće zbog testiranja osjetljivosti bakterije na fosfomicin i ostale antibiotike koji se uobičajeno koriste za terapiju ove vrste infekcija. Oko 7-10 dana nakon završene terapije novi uzorak mokraće će se testirati na prisustvo bakterije koja je bila izolirana u Vašoj urinokulturi prije početka terapije fosfomicinom. Ukoliko i nakon terapije fosfomicinom (Monurilom) i dalje budete imali dizuričke smetnje mokrenja (osjećaj peckanja pri mokrenju, stalni nagon na mokrenje, učestalo mokrenje itd.), bit će Vam preporučena parenteralna (intravenska) terapija antibiotikom iz skupine karbapenema, za što je u KBC-u Zagreb potrebna hospitalizacija u trajanju od 5 do 7 dana.

Ukoliko za vrijeme ili nakon terapije fosfomicinom budete imali nekih zdravstvenih tegoba koje povezujete s terapijom (nuspojave antibiotika), molimo Vas da se zbog navedenog javite u dnevnu bolnicu Zavoda za kliničku farmakologiju, KBC-a Zagreb.

**U svakom trenutku Vi možete prekinuti svoje sudjelovanje u ovom ispitivanju bez ikakvih posljedica za Vaše zdravlje i daljnju skrb.**

Ja \_\_\_\_\_ potvrđujem da sam pročitao/la i razumio/jela obavijest te pristajem sudjelovati u ispitivanju pod nazivom

**„Ispitivanje učinkovitosti različitih shema doziranja fosfomicina u liječenju infekcija urinarnog trakta uzrokovanih sojevima *E. coli* i *Kl. pneumoniae* koje proizvode beta laktamaze proširenog spektra“**

koje se provodi u Zavodu za kliničku farmakologiju (odgovorna osoba Luka Bielen, dr. med.) te pristajem da mi se uzmu uzorci urina za ispitivanje osjetljivosti bakterijskog uzročnika na antibiotike te za izradu kontrolne urinokulture nakon terapije.

Datum

Potpis

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



**KLINIČKI BOLNIČKI CENTAR ZAGREB**  
**KLINIKA ZA UNUTRAŠNJE BOLESTI**  
**Zavod za kliničku farmakologiju**

Kišpatićeva 12, Zagreb

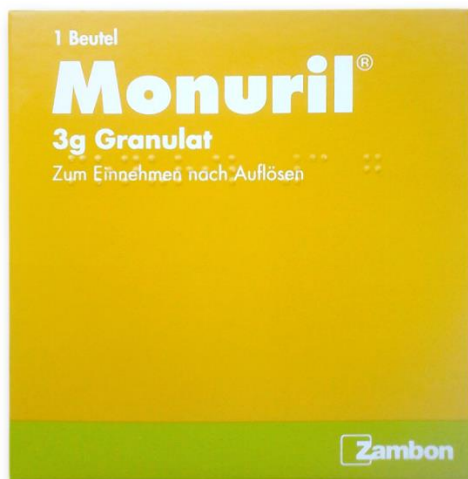
Predstojnik Klinike: Akademik Željko Reiner

Pročelnik Zavoda: Prof. dr. Igor Francetić



Poštovani,

Bolujete od upale mokraćnog sustava uzrokovane multirezistentnom bakterijom koja proizvodi beta laktamazu proširenog spektra. Radi se o rijetkom tzv. ESBL soju bakterije koja pokazuje otpornost na niz antibiotika. Zbog toga se



često mora liječiti antibioticima iz skupine karbapenema, koji se međutim mogu primjenjivati jedino parenteralno (u venu), što zahtijeva primjenu u bolnici. Zbog navedenog smo u Zavodu za kliničku farmakologiju KBC-a Zagreb pokrenuli projekt u kojem ispitujeemo učinkovitost lijeka

**Monuril (originalni proizvod antibiotika fosfomicina)** za liječenje ovih infekcija. Lijek se već niz godina koristi u više zemalja Europske Unije i nabavljen je interventnim uvozom. U oko 90% slučajeva ESBL bakterijski sojevi su na ovaj antibiotik osjetljivi, a kliničko izlječenje se kreće između 70 i 90%. Lijek se primjenjuje na usta jednom dnevno.

Za liječenje **Monurilom** možete se javiti u **Dnevnu bolnicu Zavoda za kliničku farmakologiju** KBC-a Zagreb, uz prethodnu najavu na telefon: **01/2376-045** ili **098/186-3876** (odgovorna osoba Luka Bielen, dr. med.).

