



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

KİNOLON DİRENÇLİ *ESCHERICHIA COLI* KLİNİK İZOLATLARINDA PLAZMİDİK DİRENÇ MEKANİZMALARININ ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

DR. PINAR AKÇAY ÖZLÜER

DANIŞMAN

Doç. Dr. Murat TELLİ

AYDIN-2016

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**KİNOLON DİRENÇLİ *ESCHERICHIA COLI*
KLİNİK İZOLATLARINDA PLAZMİDİK
DİRENÇ MEKANİZMALARININ
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. PINAR AKÇAY ÖZLÜER

DANIŞMAN

Doç. Dr. Murat TELLİ

AYDIN-2016

ÖNSÖZ

Tıpta uzmanlık eğitimim süresince ve tezimi hazırlamamda büyük emeği geçen tez danışmanım Doç. Dr. Murat TELLİ' ye ve değerli hocalarım, Prof. Dr. Neriman AYDIN, Prof. Dr. Sevin KIRDAR, Prof. Dr. Bülent BOZDOĞAN, Doç. Dr. Berna KORKMAZGİL'e yakın zamanda tanışmış olmamıza rağmen manevi desteğini hiç unutmayacağım Yrd. Doç. Dr. Güneş ÖZÇOLPAN' a teşekkür ederim.

Sevgili hocam Prof. Dr. Bülent BOZDOĞAN'a pozitif kontrol suslarının temini için desteklerinden dolayı ayrıca teşekkür ederim.

Asistanlığım sürecinde hiçbir yardım ve desteğini esirgemeyen teknisyen arkadaşlarıma ve Dr. Hazel MALAŞ'a, tezimin istatistiksel analizinde de desteğini almış olduğum, ama dostluklarıyla da beni her daim yalnız bırakmayan arkadaşlarım Erdoğan MALATYALI ve Dr. İbrahim YILDIZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlığımız boyunca dostluğumuzu pekiştirip kardeşliğe dönüştürdüğümüz, uzak olsak da yol arkadaşlığından asla vazgeçmeyeceğim can dostlar, güzel insanlar Uzm. Dr. Rıfat BÜLBÜL ve Uzm. Dr. Neslihan Eda DEMİRKAN'a çok teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemi sağlayan desteklerini ve emeklerini hiç eksik etmeyen canım anneme, babama ve biricik kardeşime ve beni büyüten melek ananeme; hayatımı anlamlı hale getiren, her şartta her koşulda hep yanımda olan, bana destek olan hem evimizin hem de kalbimin vazgeçilmezi canım eşim ve meslektaşım Uzm. Dr. Yunus Emre ÖZLÜER'e ve gözümün nuru varlığıyla beni dünyanın en mutlu insanı yapan tatlı kızım Naz'a sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe.....	3
2.2. Mikrobiyolojik Özellikler	4
2.3. Virulans Faktörleri.....	5
2.3.1. Yüzey Virulans Faktörleri.....	5
2.3.1.1. Fimbriyal Adezinler	6
2.3.1.2. Nonfimbriyal Adezinler	7
2.3.1.3. Fimbriya.....	7
2.3.1.3.1. Tip 1 Fimbriya.....	7
2.3.1.3.2. P Fimbriya	8
2.3.1.3.3. S Fimbriya ve FIC Fimbriya	8
2.3.1.3.4. Tip Dr Fimbriya.....	8
2.3.1.4. Kapsül.....	8
2.3.1.5. Lipopolisakkarit (LPS)	9
2.3.2. Dışa Salınan Virulans Faktörleri	9
2.3.2.1. α -Hemolizin	9
2.3.2.2. Sitotoksik Nekroz Yapıcı Faktör 1 (CNF1)	9
2.3.2.3. Salgısal Ototransporter Toksin (SAT)	10
2.3.2.4. Sitolizin A.....	10
2.3.3. Sideroforlar	10
2.4. <i>Escherichia coli</i> Enfeksiyonları ve Klinik Önemi	10
2.4.1. Enterohemorajik <i>E. coli</i> (EHEC)	11
2.4.2. Enterotoksijenik <i>E. coli</i> (ETEC)	12
2.4.3. Enteroinvaziv <i>E. coli</i> (EIEC)	12
2.4.4. Enteropatojenik <i>E. coli</i> (EPEC)	12
2.4.5. Enteroagregatif <i>E. coli</i> (EAgEC).....	12
2.4.6. Diffüz Adherent <i>E. coli</i> (DAEC).....	13
2.5. Tedavi	13
2.6. Antimikrobiyal Ajanlar	15
2.7. Bakteriyel Antimikrobiyal Direnç.....	17
2.7.1. Antimikrobiyal Direncin Horizontal Transferi.....	18
2.7.2. Plazmidler	18
2.7.3. Transpozonlar.....	19
2.7.4. Gen Kasetleri ve İntegronlar	19

2.8. Kinolonlar	20
2.8.1. Kimyasal Yapı.....	21
2.8.2. Kinolonların Moleküler Etki Mekanizmaları	23
2.8.3. Kinolonlara Direnç Mekanizmaları.....	24
2.8.3.1. İlaç Hedefinde Değişikliğe Yol Açan Mutasyonlar	24
2.8.3.2. İlaç Birikimini Azaltan Mutasyonlar	26
2.8.3.2.1. Membran Permeabilitesinde Azalma.....	26
2.8.3.2.2. Aktif Pompalama ile Antibiyotiğin Dışarı Atılması	26
2.8.3.3. Hücreyi İlacın Letal Etkilerinden Koruyan Plazmid Aracılı Direnç Genleri	27
2.8.3.3.1. Qnr Genleri	28
2.8.3.3.1.1. Etki Mekanizması.....	29
2.8.3.3.1.2. Qnr Genlerinin Doğal Rolünün Düzenlenmesi	31
2.8.3.3.2. Diğer PMQR Genleri	31
2.8.3.3.2.1. Kinolonların Asetilasyonu[aac(6')-Ib-cr]	31
2.8.3.3.2.2. QepA ve OqxAB Eflüks Pompaları	32
2.8.3.3.3. PMQR Genlerinin Genetik Zemini	33
2.9. Dünyada Kinolon Direnci.....	33
2.10. Türkiye’de Kinolon Direnci.....	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM	36
3.1. Bakteriye kökenler	36
3.2. Bakteri Tanımlaması.....	36
3.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri	36
3.3.1. Kirby-Bauer Disk Difüzyon Yöntemi	36
3.3.2. Mikrodilüsyon Yöntemi	37
3.4. Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz Varlığının Gösterilmesi	38
3.5. Direnç Genlerinin Araştırılması.....	38
3.5.1. DNA Ekstraksiyonu	38
3.5.2. Direnç Genlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu İle Araştırılması	38
3.5.3. Amplifikasyon Ürünlerinin Görüntülenmesi.....	40
3.6. İstatistiksel Analiz	41
4. BULGULAR	42
4.1.Kökenlerin Genel Özellikleri.....	42
4.2. İzolatların Antibiyotik Direnç Durumu.....	43
4.3. Kinolon Direncinden Sorumlu Plazmid Genlerinin Belirlenmesi	44

5. TARTIŞMA.....	49
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	56
ÖZET	57
ABSTRACT	58
KAYNAKLAR.....	59



KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

°C: Celcius derecesi

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

AFA: Afimbriyal Adezin

AK: Amikasin

AM: Ampisilin

AT: Autotransporter, Ototaşıyıcı

Bç: Baz çifti

CAZ: Seftazidim

CFA: Colonization Factor Antigen, Kolonizasyon Faktör Antijeni

CIP: Sipprofloksasin

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü

CNF 1: Cytotoxic Necrotizing Factor 1, Sitotoksik Nekrotizan Faktör 1

CRO: Seftriakson

CTX: Sefotaksim

CXM: Sefuroksim

CZ: Sefazolin

DAEC: Diffüz Adherent *Escherichia coli*

DAF: Decay Accelerating Factor, Yıkım Hızlandırıcı Faktör

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

EAggEC: Enteroagregatif *Escherichia coli*

EDTA: Etilen Diamin Tetraasetik Asit

EHEC: Enterohemorajik *Escherichia coli*

EIEC: Enteroinvaziv *Escherichia coli*

EMB: Eozin Metilen Blue

EPEC: Enteropatojenik *Escherichia coli*

ERT: Ertapenem

ETEC: Enterotoksijenik *Escherichia coli*

FEP: Sefepim

FOX: Sefoksitin

GM: Gentamisin

GSBL: Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz

H₂S: Hidrojen Sülfür

HSL: N-3-Hidroksibutiril-homoserin-lakton

HÜS: Hemolitik Üremik Sendrom

IL: İnterlökin

IMViC: I -Indol M -Metil kırmızısı Vi-Voges-Proskauer C –Sitrat

IPM: İmipenem

IS: Insertion Sequence, İnsersiyon Sekansı

ISCR1: Insertion Sequence Common Region 1, İnsersiyon Sekansı Ortak Bölgesi 1

İYE: İdrar yolu enfeksiyonu

KCN: Potasyum Siyanid

LEV: Levofloksasin

LT-1: Labil Toksin-1

LT-2: Labil Toksin-2

MFS: Major Facilitating Superfamily, Majör Kolaylaştırıcı Süper Aile

MIC: Mobile Insertion Cassette, Mobil İnsersiyon Kaseti

MİK: Minimal İnhibitör Konsantrasyon

MP: Meropenem

NaCl: Sodyum Klorür

NIT: Nitrofurantoin

NOR: Norfloksasin

OFX: Ofloksasin

PAI: Pathogenecity Island, Patojenite Adası

PAP: Pyelonephritis-Associated Pili, Piyelonefrit İlişkili Pili

PIP: Piperasilin

PMQR: Plasmid-Mediated Quinolone Resistance, Plazmid Aracılı Kinolon Direnci

PRP: Pentapeptide Repeat Protein, Pentapeptid Tekrar Proteini

QRDR: Quinolone Resistance Determining Region, Kinolon Direnci Belirleme Bölgesi

RNA: Ribo Nükleik Asit

RND: Resistance-Nodulation-Division, Direnç-Nodülasyon-Bölme

RTX: Repeat Toxin, Tekrar Toksini

SAM: Ampisilin sulbaktam

SAT: Secreted Autotransporter Toksin, Salgısal Ototaşıyıcı Toksin

SFA: S Fimbriyal Adezin

SLT-1: Shiga-like Toxin, Shiga Benzeri Toksin

SLT-2: Shiga-like Toxin, Shiga Benzeri Toksin

SS Agar: Salmonella Shigella Agar

STa: Stabil Toksin a

STb: Stabil Toksin b

SXT: Trimetoprim Sülfametoksazol, kotrimoksazol

TB: Tobramisin

TNF: Tümör Nekrotizan Faktör

TTP: Trombotik Trombositopenik Purpura

TZP: Piperasilin tazobaktam

UV: Ultraviyole

µm: Mikrometre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Kinolonların biyokimyasal yapısı

Şekil 2: Kinolon direnç mekanizmaları

Şekil 3: EARSS verilerine göre 2003-2008 yıllarında katılımcı ülkelerde florokinolon dirençli *E. coli* izolatlarının oranı

Şekil 4: Çalışmaya dahil edilen kinolon dirençli *Escherichia coli* kökenlerinin izole edildikleri birimlere göre dağılımı

Şekil 5: Çalışmaya dahil edilen kinolon dirençli *Escherichia coli* kökenlerinin izole edildiği örneklerin türlerine göre dağılımı

Şekil 6: Çalışmaya dahil edilen kinolon dirençli kökenlerde GSBL pozitiflik oranı

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo I: Üropatojenik *E. coli* suşları tarafından sentezlenen farklı adezinlerin karakteristik özellikleri

Tablo II: *Enterobacteriaceae* ailesine etkili olan antimikrobiyallerin sınıflandırılması

Tablo III: Antimikrobiyallerin etki mekanizmaları

Tablo IV: Antimikrobiyal direnç mekanizmaları

Tablo V: Kinolonların jenerasyonlara göre gruplandırılması

Tablo VI: EARSS verilerine göre 2005-2009 yılları arasında Türkiye’de *E. coli* izolatlarının florokinolonlara direnç oranları

Tablo VII: Levofloksasin, siprofloksasin, norfloksasin ve ofloksasin için MİK yorumlama standartları

Tablo VIII: *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrS*, *qepA* ve *aac(6’)-Ib* için polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan primer çiftleri

Tablo IX: *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrS*, *qepA* ve *aac(6’)-Ib* için polimeraz zincir reaksiyonu karışımı

Tablo X: Kinolon dirençli *Escherichia coli* suşlarının diğer antibiyotiklere direnç oranları

Tablo XI: Kinolon dirençli *Escherichia coli* suşlarında tespit edilen plazmid aracılı direnç genlerinin dağılımı

Tablo XII: *aac(6’)-Ib* izole edilen kökenlerde çeşitli antibiyotiklerin direnç durumları

Tablo XIII: Kinolon dirençli kökenlerin, *qnrS* ve *aac(6’)-Ib* pozitif kökenlerin MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri

Tablo XIV: Kinolon dirençli *Escherichia coli* suşlarında plazmid genleri tespit edilen kökenlerin tüm verileri

Tablo XV: İdrar kültüründen 1996-2012 yılları arasında izole edilen *E. coli* kökenlerinin antibiyotiklere direnç oranları

RESİM DİZİNİ

Resim 1: Theodore Escherich

Resim 2: Elektroforez jel görüntüsü



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kinolonlar son yıllarda, özellikle *Escherichia coli* gibi Gram negatif mikroorganizmaların oluşturduğu enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerdir. Ancak son zamanlarda kinolon direnci bu suşlarda hızlı bir artış göstermektedir. Kinolonlara karşı kazanılmış direnç gelişimi çoğunlukla tek basamaklı spontan kromozomal mutasyonlarla oluşmaktadır (1). Kromozomal mutasyonlar sonucunda; DNA giraz ve Topoizomera IV' de spesifik aminoasit yer değişikliği, dış membran proteinlerinin kompozisyonunda değişiklik ya da dış atım pompalarının yüksek ekspresyonu yoluyla ilacın bakteri içerisine alınımının azalması ve kinolon hedef enzimlerinin ekspresyon düzeyinde değişiklik meydana gelmektedir. Yakın tarihe kadar, kinolon direnç mekanizmalarının tümünün kromozomal olduğu bilinirdi. İlk kez 1998 yılında bir *Klebsiella pneumoniae* klinik izolata tanımlanan pMG252 plazmidini taşıyan kökenlerin kinolon direncini daha kolay kazandıkları tespit edilmesi ile kromozomal mutasyonların yanında aktarılabilir kinolon direnç mekanizmalarının varlığı gösterildi (2). Plazmid aracılı direnç mekanizmaları; kinolon hedef koruması, enzimatik inaktivasyon, yavaş büyüme ve dış atım pompalarında değişikliklerdir. pMG252 plazmidinin klonlanması sonucu, pentapeptid ailesine ait bir proteini kodlayan ve *qnr* (*qnrA1*) ismi verilen gen bölgesinin plazmid aracılı kinolon direncine neden olduğu belirlenmiştir (3). Bazı kinolonların enzimatik inaktivasyonuna ve sonuçta duyarlılığın azalmasına neden olan *aac(6')-Ib-cr* geni 2006 yılında bulunmuştur. Diğer plazmid aracılı kinolon direncine neden olan *qepA* [Quinolone Qfflux Pump; Kinolon Efluks Pompası (*qep*)] geni ise geri atım pompalarının bir proteinini kodlayarak norfloksasin ve siprofloksasin gibi hidrofilik kinolonların hücre dışına pompalanmasına neden olmakta, böylece bu antibiyotiklerin minimal inhibitör konsantrasyonlarını (MİK) arttırmaktadır. Bugüne kadar plazmid aracılı kinolon direnci ile ilgili *qnr*, *aac(6')-Ib-cr*, *qepA* olmak üzere üç gen tanımlanmıştır (2).

Kinolonların klinik kullanıma girmesinden itibaren yaklaşık 40 yıllık süreçteki bilgilerimizin aksine kinolonlara direncin plazmidle ilişkili olabildiği *qnr* genlerinin gösterilmesiyle gündeme gelmiş ve büyük ilgi uyandırmıştır. Böylece, birçok antibiyotik grubunda olduğu gibi kinolonların direncinden sorumlu genlerin de plazmidlerle aktarılabilir olması, artan direnç oranları ile sonuçlanabilir. Bu antibiyotiklerin de yakın zamanda klinikte kullanımını sınırlayabilir.

Escherichia coli türleri en sık üriner sistem enfeksiyonu olmak üzere diyare, kolesistit, kolanjit, batın içi apseler ve hatta menenjit gibi birçok enfeksiyonun etkeni olabilir. Ancak sıklıkla üriner sistem enfeksiyonlarında ampirik olarak kinolon türevleri tercih edilmektedir. *Escherichia coli*'nin etken olduğu enfeksiyonlarda sıklıkla kinolon direnci tespit edilebileceği düşünülerek çalışmamızda bu bakteri türlerinde plazmid aracılı direnç genlerinin araştırılması hedeflenmiştir.

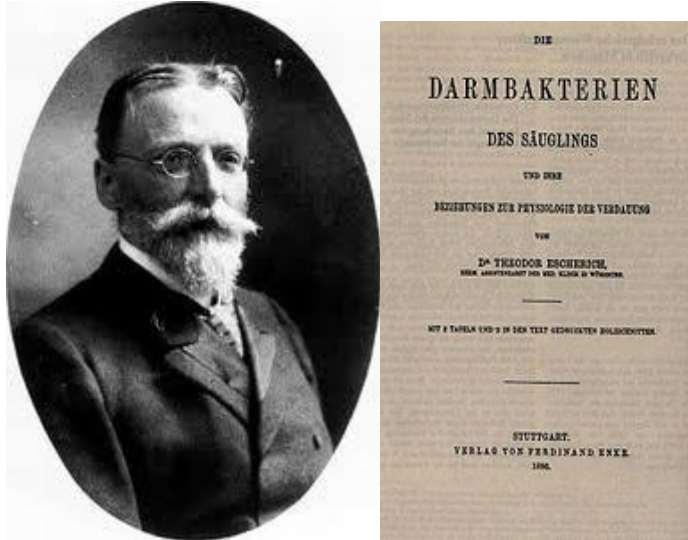
Plazmid aracılı kinolon direnç genlerinin moleküler yöntemlerle saptanabilmesi ve prevalansının takibi, gelecekte kinolon grubu antibiyotiklerin tedavi protokollerindeki yerine ışık tutması açısından önemlidir. Bu çalışma hastanemizde ilk kez plazmid aracılı kinolon direncinin araştırılacağı çalışma olması nedeniyle, hastanemizde ampirik olarak kullanılan kinolon grubu antibiyotiklerin seçimi konusunda klinisyenlere yol gösterici olacaktır. Halk sağlığı açısından akılcı antibiyotik kullanımı konusunda faydalı bir çalışma olacaktır.

Bu çalışmanın amacı 2012 Ocak ve 2013 Aralık tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda kinolon direnci tespit edilen *Escherichia coli* suşlarında plazmid aracılı *qnr*, *aac(6')-Ib-cr* ve *qepA* direnç genlerinin araştırılmasıdır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Escherichia coli (*E. coli*), *Bacterium coli commune* adı ile ilk kez 1885’ te Alman Bakteriyolog Theodore Escherich (Resim 1) tarafından enteritli bebeklerin dışkılarında gösterilmiştir. Escherich, bakteriyi tespit edebilmek için, Robert Koch ile bakteriyoloji alanında çalışmış olan Wilhelm Frobenius’ tan, bakterileri kültürünün yapıldığı ya da petrilere üretildiği yeni teknikleri öğrenmiştir. Koch’un varsayımlarına dayanarak Escherich, bebeklerde enterite sebep olan şeyin dışkılarında tespit edilebileceğini öngörmüştür (4). Daha sonra 1919’da Castellani ve Chamer tarafından izole eden kişinin adı verilerek *Escherichia coli* olarak adlandırılmıştır (5). 1945 yılında bir çocuk bakımevindeki ishal salgınından barsak patojeni olan enteropatojenik *E. coli* (EPEC) suşu tanımlanmıştır (6). 1969’da Orta Doğu’daki İngiliz askerlerindeki ishal olgularında enterotoksijenik *E. coli* (ETEC) suşları ve aynı yıllarda enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) suşları izole edilmiştir. Shiga toksin oluşturan enterohemorajik *E. coli* (EHEC) suşları ilk kez 1977 yılında Konowalchuk ve ark. tarafından farklı bir patojenik tür olarak tanımlanmıştır (7). Ancak 1982’de ABD’de pişmemiş kıymadan kaynaklanan zehirlenme olayıyla gıdalar aracılığı ile salgınlara yol açtığı bildirilmiştir (8). Enteroagregatif *E. coli* (EAggEC)’nin ilk kez 1987’de ishale sebep olduğu anlaşılmış ve doku kültürlerinde kümeler oluşturmaları ile tanımlanmışlardır (9).



Resim 1: Theodore Escherich (<https://tr.wikipedia.org>)

2.2. Mikrobiyolojik Özellikler

Escherichia coli suşları ortalama 2-6 µm boy ve 1-1,5 µm eninde düz formda basillerdir. Gram negatif, çoğunlukla hareketli, fakültatif anaerop, 1-2 mm çapında S tipi koloniler yapan bakterilerdir. Özellikle 44 °C’ de üremesi diğer bakterilerden (*Enterobacter* ve *Serratia*) ayrılmasını sağlar.

Escherichia coli, glikoz, laktoz, maltoz, mannitol, ksiloz gibi şekerleri asit ve gaz yaparak, sükroz, salisin, rafinoz gibi şekerlere olan etkisi değişken olup, adonitol, inozitolü genellikle fermente etmezler. Nişastadan gaz oluşturmazlar. İndol pozitif, metil kırmızısı testi pozitif, Voges proskauer testi negatif olup, sitratlı besiyerinde üreyebilirler. Böylece IMViC testleri (++--) dir. Üreyi kullanmadığı için besiyerinde üre oluşturmaz, KCN (potasyum siyanid) testi negatiftir. Genellikle H₂S oluşturmaz. Laktoza etkilerinden yararlanılarak yapılan çeşitli besiyerlerinde kolaylıkla ürer. Eozin metilen blue agar besiyerinde, laktoz, eozin ve metilen mavisi boyaları bulunur. Laktoz parçalanarak oluşan asit kolonilerin mavi-siyah parlak röfleli görünmesini sağlar. Ayrıca SS agar, MacConkey ve Endo agarda laktozun kullanılması sonucunda kırmızı renkli koloniler oluşur. Kanlı agar besiyerinde bazen hemolizli koloniler oluşur.

Dezenfektanlara, bazı boya (Malaşit yeşili, Fuksin vb.) maddelerine, safra ve safra tuzlarına ve %7 NaCl’ e karşı duyarlı, fakat ısı ve soğuğa dirençlidir.

Escherichia coli, diğer barsak bakterileri gibi çeşitli antijenlere sahiptir. Bunlar;

- O Antijenleri: Somatik antijen olup, ısıya, kaynatmaya ve alkole dayanıklı, formole dayanıksız, lipopolisakkarit yapısındadır. Bu antijene göre gruplara ayrılır.
- H Antijenleri: Kirpik antijenleri olup hareketli kökenlerde bulunur. Protein yapısında ve 100 °C’ de ısıtılmakla, alkol ve proteolitik fermentlerle dayanıksız, formole dayanıklıdır. Bu antijen ile serovarlara ayrılır.
- K Antijenleri: Kapsül antijeni olup, polisakkarit yapısında ve ısıya dayanıklıdır. 100 – 120 derecede bir iki saat kaynatmakla ortadan kaldırılabilirler. Bu antijene sahip bakteriler somatik antiserumları ile aglütinasyon oluşturmaz. K antijeni ile serovarlara ayrılır.
- Fimbria Antijenleri: Özellikle mannoz dirençli fimbriyaları bulunan bakterilerde görülür.

Escherichia coli, O, H, K antijenlerine göre tiplendirilerek O₁₅₇:H₇, O₁₈:K₁:H₇ şeklinde isimlendirilir. Ek olarak, bakteriyofajlarına göre faj tiplerine, bakteriyosin (Colisin) salgılamasına göre tiplerine ayrılırlar.

2.3. Virulans Faktörleri

Escherichia coli, farklı dokuları enfekte edebilmek için yapısal faktörler veya hücre dışına salgılanan toksinler, enzimler gibi pek çok virulans faktörü taşımaktadır.

Değişik dokulara tutunma için *E. coli*'nin çeşitli adezyon molekülleri vardır. Tip II (mannoz dirençli) fimbriyalardan olan kolonizasyon faktör antijenleri, P fimbriya ve X-faktör üropatojen *E. coli* kökenlerinde önemli virulans faktörlerindendir (10). Tüm virulans faktörleri ile *E. coli*'nin mukozal üroepitelyuma kolonize olarak, inflamatuvar reaksiyona yol açmasına ve alt üriner sistemden böbreklere ait boşluklara ve dokulara ilerlemesine imkân yaratmaktadır.

Sistite neden olan çoğu *E. coli* suşları Tip I (mannoza duyarlı) fimbriyaya sahiptirler (11). Kolonizasyon faktör antijenleri [Colonization Factor Antigen; Kolonizasyon Faktör Antijeni (CFA)] I ve II ve Tip I (Mannoz duyarlı) fimbriyalar ile *E. coli* gastrointestinal sistem hücrelerine tutunarak, intestinal sistem hareketi esnasında elimine edilmekten kurtulur (12). S fimbriya ise sepsis ve menenjitli yenidoğanlardaki *E. coli* suşları ile ilişkilidir. N-asetil nöraminik asit polimeri olan K1 kapsülü yenidoğan menenjitli, bakteriyemi ve üriner enfeksiyonda rol oynar (13). O somatik antijenleri de *E. coli*'nin çeşitli dokulardaki reseptörlere bağlanmasına katkı sağlayabilirler (10).

Virulans faktörleri kromozomda yer alan PAI [Pathogenicity Islands; Patojenite Adaları (PAI)] veya plazmidlerde kodlanır. PAI hareketli ve büyük bir genomik DNA bölgesidir ve en az bir virulans faktörü taşımaktadır.

2.3.1. Yüzey Virulans Faktörleri

Temel olarak fimbriyal kökenli çeşitli adezinlerden oluşmaktadır. Fimbriyalar saç benzeri ince, protein alt birimlerinden meydana gelmiş yapışma organelleridir. Fimbriyalar hücre sitoplazmasından köken almıştır ve hücre membranından dışarı çıkmaktadır. Bakterinin epitelyuma tutunmasını sağlar. Üroepitelyum hücrelerinin glikoprotein veya glikolipid kısımlarına bağlanırlar.

2.3.1.1. Fimbriyal Adezinler

İdrar yolu enfeksiyonu ile ilişkili *E. coli* suşlarında iki majör fimbriyal adezyon sistemi tanımlanmıştır: PAP ve SFA (Tablo I). PAP [Pyelonephritis-Associated Pili; Piyelonefrit ilişkili Pili (PAP)] adezin, P fimbriyaların ucunda yer alır (14) (15). P fimbriya terimi PAP adezinin insan eritrositleri ve ürotelyal hücreleri üzerinde bulunan insan digalaktozid P kan grubu determinantlarını tanıyarak artmış adezyon sebep olmasından köken almaktadır (16).

Tablo I: Üropatojenik *E. coli* suşları tarafından sentezlenen farklı adezinlerin karakteristik özellikleri

Bakteriyel Yapı			Selüler Reseptör	
Adezin	Pilin (Fimbriya)	Operon	Biyokimyasal Yapı	Hemagglütinasyon
PAP G	P Fimbriya	<i>pap</i>	Alpha-D-gal-(1-4)-beta-D-gal	İnsan P kan grubu
SFA	S Fimbriya	<i>sfa</i>	Alpha-sialyl-(2-3)-beta-gal	İnsan ve sığır eritrositleri
AFA	Fimbriya ile ilişkisiz	<i>afa</i>	Decay accelerating factor (DAF)	İnsan eritrositleri

Escherichia coli' nin P fimbriyalarının kan grubu determinantlarına bağlanması konağın enfeksiyona yatkınlığı ile ilgili önemli sonuçlar doğurmaktadır. Doku-kan grubu antijenleri ekprese etmeyen kadınlarda, *E. coli*' nin in vitro ortamda ürotelyal hücrelere artan oranda bağlandığı ve tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonlarının daha sık görüldüğü gösterilmiştir (17). Yine aynı grup hastalarda, *E. coli*' ye yüksek avidite ile bağlanan proteinlerin üretimine neden olan gal-globozid glikolipid reseptörlerinin anormal çalışması olabileceği öne sürülmüştür (18).

2.3.1.2. Nonfimbriyal Adezinler

Nonfimbriyal adezinler, *AFA* (afimbriyal adezin)' nın da içinde olduğu çok çeşitli proteinleri içerir. Diğer önemli adezinler arasında trimerik proteinlerin AT [Autotransporter; Ototaşıyıcı (AT)] ailesi sayılabilir (19). Bu proteinlerden ikisi *E. coli* K-12 antijen 43 (Ag43a) ile yüksek oranda homologdur. Bu antijen, mesanede uzun dönem *E. coli* sebatı ile ilişkili olan biyofilm büyümeyi güçlü olarak uyarmaktadır.

Bir *E. coli* suşunda adezinlerin varlığı lateks hemaglutinasyon gibi fenotipik metodlarla belirlenebilir. Bununla birlikte, kültürü yapılmış bakteride üropatojenitenin fenotipik ekspresyonu kaybolmuş olabilir. Bunun sonucu olarak, bakteriyel kromozomal DNA'daki *pap*, *afa* ve *sfa* operonlarının tespitinde genetik ve moleküler metodlara başvurulmuştur (20). Bu da idrar yolu enfeksiyonlarında bu adezinlerin sıklığı ile ilgili daha doğru sonuçlar elde edilmesini sağlamıştır.

2.3.1.3. Fimbriya

İdrar yolu enfeksiyonlarından korunmada fimbriyaların rolünün potansiyel olarak önemli terapötik sonuçları vardır.

On sekiz *E. coli* suşunun membran proteinlerini içeren günlük oral tablet ve ısı ile öldürülmüş üropatojenik *E. coli* suşlarını içeren iki adet aşı formülasyonu geliştirilmiştir. Ancak, sık kullanım gerektirmektedirler (21). Olasılıkla, düşük doz (non-bakterisidal) antibiyoterapi profilaksisi ürotelyuma fimbriyal adezyonu azaltarak, idrar yolu enfeksiyonunun relaps sıklığını azaltmaktadır.

2.3.1.3.1. Tip 1 Fimbriya

En fazla eksprese edilen virulans faktörüdür. Üropatojen *E. coli*' lerin %80'den fazlasında üretilmektedir. Mannoza duyarlı fimbriyalardır. Bakteriyel adezyonu, invazyonu ve biyofilm oluşmasını düzenlemektedir. Bu fimbriyalar, konak hücre yüzeyinde bulunan glikoprotein moleküllerindeki mono-oligosakkaritleri tanıyarak bağlanmaktadır. Tip 1 Fimbriya, inatçı enfeksiyonların oluşması ve enfeksiyona karşı artmış inflamatuvar yanıt ile ilişkilidir (18).

Escherichia coli idrar kesesi epitelyumuna, adezyon alt birimlerinden olan FimH adezinin mannoz reseptörüne tutunması ile bağlanmaktadır. Sistite neden olmaktadır. Sadece Tip 1 fimbriyası oluşturan suşlar idrar yapma sırasında idrarın yıkayıcı etkisi ile idrar kesesinden dışarı atılır. Tip 1 fimbriya ayrıca idrarda normal olarak bulunan Tamm-Horsfall proteinine de mannoz açısından zengin olması nedeni ile tutunma özelliği gösterir (22). Tip 1 fimbriyaların üropatojenik *E. coli*'nin, mesaneden böbreklere asendan şekilde ulaşmasını engelleyen koruyucu bir mekanizma olan üreter kontraktilesinin zayıflamasında rol oynadığı gösterilmiştir (23) (24).

2.3.1.3.2. P Fimbriya

Üropatojen *E. coli* bakterilerinde en yaygın üretilen ikinci virulans faktörüdür. Disakkarit P reseptörü (gal-gal) taşıyan P kan grubu antijenlerine bağlanabilmesi nedeniyle bu ad verilmiştir. Pap A-K gen operonu tarafından kodlanan değişik protein alt ünitelerinden meydana gelen heteropolimerik liflerden oluşmaktadır. Pap G adezini sayesinde böbrek hücrelerine tutunmaktadır. Piyelonefritik *E. coli* izolatlarının %80'den izole edilmiştir. İdrar yolu enfeksiyonu ve piyelonefrit patogenezi artırır. P fimbriyalar oligosakkarit reseptörlerine bağlanma ile ilişkilidir ayrıca epitelyal hücre aktivasyonu ve IL6-IL8 sitokinlerinin üretimini indüklemektedirler (25) (26).

2.3.1.3.3. S Fimbriya ve F1C Fimbriya

Alt üriner sistem ve böbrekte bulunan epitel ve endotel hücrelerine etkili bir şekilde bağlanmayı sağlamaktadırlar. Bakteriyemi yapan *E. coli* suşlarında daha sık rastlanmaktadır (10).

2.3.1.3.4. Tip Dr Fimbriya

Escherichia coli türleri DAF [Decay Accelerating Factor; Yıkımı Artırıcı Faktör (DAF)] adlı tamamlayıcı düzenleyici bir protein sayesinde epitel hücrelerini istila ederler. Bu protein sayesinde *E.coli* türleri çocuklardaki sistit (%30-%50) ve hamilelerdeki piyelonefrit (%30) ile ilişkilidirler (26).

2.3.1.4. Kapsül

Kapsül, fagositik yutulmaya karşı koruma ve konaktaki kompleman ilişkili bakterisidal etkiyi sağlamaktadır. İki tipi bulunmaktadır: K1 ve K2. Bunlar doku bileşenlerine karşı moleküler benzeme göstermekte bu sayede de immun cevaptan kaçma gerçekleşmektedir (25).

2.3.1.5. Lipopolisakkarit (LPS)

Lipopolisakkarit somatik antijenlere karşı spesifik antikorların sentezini indüklemektedir. Sitokin sentezini (IL1, TNF α) etkileyerek inflamatuvar yanıtı arttırmaktadır. Diğer patojen antijenlere karşı oluşan humoral immun cevabın düzenlenmesinde immuno-adjuvant etki gösterir. Lipopolisakkarit aynı zamanda endotoksin aktivitesi göstermektedir (30).

2.3.2. Dışa Salınan Virulans Faktörleri

2.3.2.1. α -Hemolizin

α -Hemolizin üropatojen *E. coli* 'lerde en sık rastlanan virulans faktörlerinden bir tanesidir. RTX [Tekrar Toksini; Repeat Toxin (RTX)] ailesine ait ökaryot hücre membranında por oluşturan bir toksindir. Isı değişken bir hücre dışı proteinidir. Plazmid veya kromozomal kökenli olabilir. Hedef hücreler eritrositlerin yanında, lökositler, endotel ve böbrek epitel hücrelerdir. Toksin ve kalsiyum bağlanması por oluşumu için önemlidir. Bu oluşum sitoplazmik komponentlerin serbest kalmasına sebep olduğu için toksinin yüksek miktarları hücreleri lizise uğratar. Hemolizin üretimi; en fazla (%49) olmak üzere piyelonefrit hastalarından alınan suşlarda görülmektedir. Bunu (%40) oranında sistit hastalarından alınan suşlar izlemektedir (25) (26) (27).

2.3.2.2. Sitotoksik Nekroz Yapıcı Faktör 1 (CNF1)

. Sitotoksik nekroz yapıcı faktör 1 olası üropatojenik virulans faktörlerden biridir. Fagositoz ve apoptozis ile ilişkilidir. Konak dokularda direkt sitotoksiteye neden olmaktadır.

2.3.2.3. Salgısal Ototransporter Toksin (SAT)

Salgısal ototransporter toksin piyelonefritik *E. coli* suşları ile ilişkili bir serin proteaz oto-taşıyıcısıdır. Mesane veya böbrek orjinli hücrelere karşı toksik aktivite göstermektedir (25).

2.3.2.4. Sitolizin A

Sitolizin A konak hücre apoptozisi ve hücre siklusunu durdurma aktiviteleri göstermektedir.

2.3.3. Sideroforlar

Sideroforlar düşük moleküler ağırlıkta olan moleküllerdir. Ferrik (Fe^{+3}) demire karşı yüksek bir ilgileri vardır. Demir bağlanmış sideroforlar reseptörler aracılığı ile siderofor-demir kompleksin bakteri membranından ve sitoplazmadan geçişini kolaylaştırmaktadır. Sınırlı demir varlığı, bakteriyel patojenlerin istilasına karşı önemli bir konak savunmasıdır. *E. coli* suşları aerobik metabolizma ve çoğalma için demire ihtiyaç duyar. (25) (27) (28). Bakteriyemi yapan *E. coli* suşları hemolizin aktivasyonu ile eritrositlerden bol miktarda hemoglobin açığa çıkardığı için siderofora ihtiyaç duymazlar (10).

2.4. *Escherichia coli* Enfeksiyonları ve Klinik Önemi

Escherichia coli günümüzde toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonların en önemli etkenleri arasında yer almaktadır. Mikrobiyoloji laboratuvarında en sık izole edilen ve hemen her organ ve dokuda enfeksiyon oluşturabilen patojen *E. coli*' lerin enfeksiyonları mukozal yüzeylerde sınırlı kalabildikleri gibi dissemine de olabilir (9). İmmun sistem bozuklukları, sindirim sistemi savunma mekanizmalarındaki bozukluklar gibi durumlarda patojen olmayan *E. coli*' ler de enfeksiyon etkeni olabilir (29) (30). Enteropatojenik suşlarla oluşan ishaller, üropatojenik suşlarla oluşan idrar yolu enfeksiyonları (İYE), neonatal menenjit, sepsis, karın içi enfeksiyonları, yara yeri ve akciğer enfeksiyonları *E. coli*' lerin oluşturduğu başlıca hastalıklardır (10) (29).

İntestinal sistem dışı enfeksiyonlar içinde *E. coli* 'ler en sık İYE' ye neden olurlar (9). Üropatojenik suşlar virulans faktörleri ile önce üriner mukoza hücrelerine tutunup kolonize olmakta, daha sonra invazyon göstererek asemptomatik bakteriüri, akut semptomatik İYE, tekrarlayan İYE gibi tabloları oluşturmaktadırlar (9). Toplum kaynaklı İYE genellikle asendan enfeksiyon şeklinde başlar ve önce üretrit sonra sistit; enfeksiyonun yukarıya ilerlemesiyle birlikte böbrekte piyelonefrit ve ciddi doku hasarı yapabilir.

Escherichia coli türleri ile hastane kaynaklı enfeksiyonlar çoğunlukla üriner kateterizasyon veya üriner sisteme yapılan diğer girişimleri takiben gelişir ve ürosepsise neden olabilir. Erişkin yaştaki sepsis olgularının yaklaşık %25'i ürosepsistir ve ciddi sepsis ve septik şok tanılı hastaların yaklaşık %10-30'unda kaynak İYE' dir (31).

Escherichia coli türleri hastane kaynaklı pnömoniye neden olan başlıca mikroorganizmalar arasında bildirilmektedir (10). Bununla birlikte kronik akciğer hastalığı olanlar, yaşlılar, diyabetikler gibi immun direnci düşük olanlarda ağız sekresyonlarının aspirasyonu ile toplum kaynaklı olarak da görülebilir. Hastalarda ampiyem ve bakteriyemi de gelişebilir (9). *Escherichia coli* özellikle hastane ortamında cerrahi yara enfeksiyonları, çeşitli organlarda abse, septik artrit, osteomyelit, endokardit, tromboflebit, prostatit, endoftalmit, sinüzit gibi pek çok klinik tabloya yol açabilir (10).

Yenidoğan *E. coli* menenjitin mortalite oranı 1970'li yıllardan bu yana her ne kadar %50 oranında azalmış olsa da %10-15' lik mortalite ile dünyada önemli bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir. Ek olarak, bahsi geçen süre içerisinde morbidite oranları göreceli olarak aynı kalmıştır (32). İnsidansı 1000 canlı doğumda 0,25-0,32 kadar düşük olmasına rağmen yenidoğan akut bakteriyel menenjitlerinde, *Streptococcus agalactia* 'dan sonra en sık karşılaşılan etkindir (33). Etken olan suşların %80 kadarında kapsüler K1 antijeni bulunur (13).

Escherichia coli 'nin barsakta enfeksiyon oluşturan türleri; Enterohemorajik *E. coli* (EHEC), Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), Enteroagregatif *E. coli* (EAaggEC), Diffüz adherent *E. coli* (DAEC)'dir.

2.4.1. Enterohemorajik *E. coli* (EHEC)

Özellikle O₁₅₇:H₇ suşu ile oluşan enfeksiyonlar önemlidir. Az pişmiş et ürünleri, kontamine su ve yiyecekler ve pastörize edilmemiş süt ile bulaşır. İnsandan insana bulaş bir diğer bulaş yoludur. 100'den az bakterinin alınması enfeksiyon için yeterlidir. Bu

enfeksiyonlarda sulu ishali takiben hemorajik kolit ve %5-10'unda hemolitik üremik sendrom (HÜS) veya trombotik trombositopenik purpura (TTP) gelişebilir. Virulans faktörleri olarak Shiga benzeri toksin-1 ve Shiga benzeri toksin-2 (SLT-1, SLT-2) ve bunların varyantları saptanmıştır. Hemolitik üremik sendrom, özellikle 10 yaşın altındaki çocuklarda akut böbrek yetmezliği, hemolitik anemi, trombositopeni ve merkezi sinir sistemi belirtileri ile seyreden ciddi bir tablodur. Çocuklardaki HÜS etiyojisinde en sık etken %90 ile EHEC' e aittir (34).

2.4.2. Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)

Enterotoksijenik *E. coli* özellikle gelişmekte olan ülkelerde infant ishalinin önemli bir nedenidir. Aynı zamanda erişkinlerde de turist diyaresine neden olmaktadır. Sulu diyare ile belirti veren hastalıkta, ısıya duyarlı labil toksin (LT) ve ısıya dirençli stabil toksin (ST) olmak üzere iki tip enterotoksin su ve elektrolit kaybına neden olmaktadır. Bu enterotoksinler kolera benzeri ağır tablolara yol açabilir (35).

2.4.3. Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC)

Enteroinvaziv *E. coli*' nin özellikleri Shigella suşları ile çok benzerdir. İntestinal mukoza hücrelerini istila eder, hücre içi çoğalarak komşu hücrelere yayılır. Şigellozdan, glukoz ve ksilozu fermente etmesi ile ayrılır. Etken DNA probu ile tespit edilebilir ancak çoğu laboratuvarında çalışılmamaktadır.

2.4.4. Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)

Enteropatojenik *E. coli* infantil diyare etkeni olan ancak enterotoksin veya shiga toksin üretmeyen ve invaziv olmayan bazı *E. coli* serotipleri olarak sınıflandırılmıştır. Karakteristik olarak intestinal mukoza epiteline yapışıp hücreyi 'imha' eder. Gelişmekte olan ülkelerde, özellikle 6 aydan küçük çocuklarda hem sporadik ishal hem de salgın etkenidir. Normal mikrovillus yapısının bozulması ile gelişen malabsorbsiyon ve kansız diyareye sebep olur.

2.4.5. Enteroagregatif *E. coli* (EA_gEC)

Enteroagregatif *E. coli* Hep-2 hücre kültürlerinde gösterdiği spesifik agregatif adherens paterni ile tanımlanır. Dünyanın birçok yerinde ve her yaşta görülür. Şili, Brezilya,

Hindistan ve Bangladeş gibi gelişmekte olan ülkelerdeki çocuklarda kronik diyarelere, gelişmiş ülkelerde akut ishallere ve seyahat ishallerine neden olmaktadır (36) (37).

2.4.6. Diffüz Adherent *E. coli* (DAEC)

Diffüz adherent *E. coli* çocuklarda süreklilik gösteren diyarelere neden olur. Hücreye adezyon yolu ile yapıştıkları gibi diffüze de olurlar. Hep-2 hücrelerine diffüz adherens paterni sadece bu grupta gösterilmiştir. Çeşitli çalışmalarda, DAEC enfeksiyonları ile 1-5 yaş arasındaki çocuklardaki sulu ishalin önemli oranda birlikteliği gösterilmiştir (35).

2.5. Tedavi

Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü [Clinical and Laboratory Standards Institute; (CLSI)] *Enterobacteriaceae* ailesine etkili olan antimikrobiyallerin duyarlılıklarının bildiriminde ve tedavide kullanımını düzenlemek için dört gruptan oluşan bir sınıflandırma yapmıştır (Tablo II). Bu sınıflandırmaya göre Grup A, tedavide birinci seçenek olan antimikrobiyalleri içermektedir. Bu gruptaki antimikrobiyallere karşı direnç saptanmış ise Grup B'deki antimikrobiyaller tedavide kullanılabilir. Eğer bu gruptaki antimikrobiyallere de direnç saptanmış ise o zaman Grup C'deki antimikrobiyaller tedavi seçenekleri olabilir. Grup U'daki antimikrobiyaller ise sadece üriner sistem enfeksiyonlarında kullanılabilir.

Tablo II: *Enterobacteriaceae* ailesine etkili olan antimikrobiyallerin sınıflandırılması

Grup A	Grup B	Grup C	Grup U
Ampisilin*	Piperasilin	Aztreonam	Lomefloksasin Veya Ofloksasin Norfloksasin
Sefazolin	Amoksisilin/Klavulanik asit Ampisilin/Sulbaktam Piperasilin/Tazobaktam Tikarsilin/Klavulanik asit	Seftazidim Seftarolin	Sefalotin
Gentamisin Tobramisin	Amikasin	Tetrasiklin Kloramfenikol	Sulfonamid
	Sefepim Sefotaksim Veya Seftriakson Sefotetan Sefoksitin Sefuroksim Siprofloksasin Levofloksasin Doripenem Ertapenem İmipenem Meropenem Trimetoprim/ Sulfametoksazol		Trimetoprim Nitrofurantoin

Escherichia coli menenjitinde, kolesistit/kolanjitte seftriakson ve pnömonisinde seftriakson gibi 3. kuşak sefalosporinler, pnömonide alternatif olarak florokinolonlar; batın içi apselerde anaeroblari da kapsayacak şekilde ampisilin sulbaktam veya sefoksitin; ciddi enfeksiyonlarda piperasilin tazobaktam, imipenem veya meropenem kullanılabilir. *E. coli* yanında anaerobik etkenleri de kapsamak amacıyla levofloksasine ek olarak klindamisin veya metronidazol tercih edilebilir.

Escherichia coli'nin sebep olduğu turist diyaresi gibi enterik enfeksiyonlarda doksisisiklin, trimetoprim sülfametoksazol (SXT, kotrimoksazol), florokinolonlar ve rifaksimin önerilmektedir. Bu ilaçların diyare süresini 24-36 saat kısalttığı gösterilmiştir. EHEC

enfeksiyonlarında antibiyotikler kullanışlı olmamakla birlikte HÜS'e sebep olma olasılığı nedeniyle önerilmemektedir.

Komplike olmayan *E. coli* sistiti tek doz antibiyotik veya 3 günlük florokinolon, kotrimoksazol veya nitrofurantoin ile tedavi edilebilir. Tekrarlayan *E. coli* sistitinde (>2 atak/yıl) florokinolon, kotrimoksazol veya nitrofurantoin ile sürekli veya postkoital profilaksi uygulanmaktadır. Komorbid durumu olan (örneğin diyabet, >65 yaş veya yakın zamanlı İYE öyküsü) komplike vakalar 7-14 günlük levofloksasin, 3. kuşak sefalosporin veya aztreonam ile tedavi edilebilir.

Genç kadın hastalardaki akut komplike olmayan *E. coli* piyelonefritlerinde 14 günlük florokinolon veya kotrimoksazol tedavisi önerilmekte; perinefritik apseli veya prostatitli hastalarda ise en az 6 haftalık tedavi süresi gerekmektedir. *E. coli* sepsisi ise en az 2 haftalık antibiyoterapi gerektirmektedir.

Doksanlı yılların ikinci yarısından itibaren çoklu ilaca dirençli, CTX-M enzimleri gibi GSBL (Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz) üreten *Enterobacteriaceae* (en çok *E. coli*) toplum kökenli İYE' nin önemli bir etkeni olarak ortaya çıkmıştır. Bu bakteriler, bu tip enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılan (penisilinler, sefalosporinler) ve daha ciddi enfeksiyonlar için saklanan (florokinolonlar, gentamisin) antibiyotiklere direnç göstermiştir. CTX-M pozitif bakterilerin yayılması ile toplum kökenli enfeksiyonların tedavisine olan bakış açısı değişmiş ve uygulanması muhtemel olarak görülen oral antibiyotik kullanımını sınırlandırmıştır. Bu yeni bakış açısı ilk seçenek antibiyotiklere klinik olarak yanıt alınamayan hastalarda bu durumun hemen akla getirilmesini sağlamıştır (38).

Ampirik antimikrobiyal tedavi klinik tabloya yol açması muhtemel olan tüm etkenleri kapsayacak şekilde olmalıdır. Bununla birlikte, bu durum özellikle hastane koşullarında geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımını arttırmıştır.

2.6. Antimikrobiyal Ajanlar

Antimikrobiyal ajanlar bakteriyel enfeksiyöz hastalıkların kontrol ve tedavisinde kullanılan ana terapötik araçlardır. Modern Tıp'ta kullanılan ilk antimikrobiyal bileşikler, mantarların *Penicillium* genusundan elde edilen penisilinler veya bakterilerin *Streptomyces*

genusundan elde edilen streptomisin gibi yaşayan organizmalardan üretilmiştir. Organik kimyanın ilerlemesi ile sulfa ilaçlar ve kinolonlar gibi birçok antimikrobiyal ajan artık kimyasal sentez yoluyla oluşturulabilmektedir. Antimikrobiyal ajanlar bakterisidal ya da bakteriyostatik etkilerine göre sınıflandırılabilir (39). Bakterisidaller bakteriyi direkt olarak öldürürken, bakteriyostatikler bakterinin bölünmesinin engeller. Pratikte, bahsi geçen iki özellik de bir bakteriyel enfeksiyonun sonlanmasını sağlayabilmektedir. Antimikrobiyallerin sınıflandırılması etki mekanizmalarına göre de yapılabilir (40). Etki mekanizmaları arasında hücre duvarı sentezinin bozulması (beta-laktamlar), protein sentezi inhibisyonu (makrolidler), nükleik asit sentezi ile etkileşim (kinolonlar), bir metabolik yolağın inhibisyonu (kotrimoksazol) ve bakteriyel membran yapısının parçalanması (polimiksinler) sayılabilir (Tablo III) (41).

Tablo III: Antimikrobiyallerin etki mekanizmaları (41).

Mekanizma	Antimikrobiyal
Hücre duvarı sentezinin bozulması	Beta-laktamlar: penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler, monobaktamlar Glikopeptidler: vankomisin, teikoplanin
Protein sentezi inhibisyonu • 50 S ribozomal subunit bağlanma • 30 S ribozomal subunit bağlanma	Makrolidler, kloramfenikol, klindamisin Aminoglikozidler, tetrasiklinler
Nükleik asit sentezi ile etkileşim • DNA sentezi inhibisyonu • RNA sentezi inhibisyonu	Kinolonlar Rifampin
Metabolik yolağın inhibisyonu	Sülfanomidler, folik asit analogları
Bakteriyel hücre membranının parçalanması	Polimiksinler, daptomisin

2.7. Bakteriyel Antimikrobiyal Direnç

Son 50 yıl boyunca hem tıp hem de veterinerlikte antimikrobiyallerin (bazen de yanlış) kullanımı, antimikrobiyal tedaviye yanıt vermeyen bakteri suşlarının meydana gelmesine sebep olmuştur (42). Antimikrobiyal direnç birçok farklı mekanizma sonucu gelişmektedir: (1) antimikrobiyallerin hedef bölgelerine bağlanmasını engellenmesi ile sonuçlanan bakteriyel hücre duvarı/membranı permeabilitesindeki değişiklikler; (2) antimikrobiyallerin aktif olarak hücre dışına pompalanması; (3) hedef bölgede mutasyon; (4) antimikrobiyal ajanın enzimatik olarak yıkılması veya modifikasyonu ve (5) antimikrobiyal ajan tarafından inhibe edilen alternatif metabolik yolların modifikasyonu (Tablo IV) (41).

Tablo IV: Antimikrobiyal direnç mekanizmaları (41).

Direnç Mekanizması	Etkilenen Antimikrobiyal
Antimikrobiyal ajanın modifikasyonu	Aminoglikozidler, kloramfenikol ve beta laktamlar
Hedef bölgede değişim ya da bölgenin korunması	Aminoglikozidler, beta-laktamlar, makrolidler, kinolonlar, rifampisin, trimetoprim ve tetrasiklin
Azalmış antibiyotik akümüasyonu - Azalmış uptake - Artmış dışa pompalama (efluks)	Birçok antibiyotik (kinolonlar) Tetrasiklin, makrolidler, kinolonlar ve kloramfenikol
Metabolik yolağın değiştirilmesi	Sülfanomidler, trimetoprim

Bakteriler, intrinsik olarak bir ya da daha fazla antimikrobiyal grubuna dirençli olabilirler ya da de novo mutasyon veya diğer organizmalardan direnç genlerinin alınmasıyla antimikrobiyallere karşı direnç kazanabilirler (40). İntrinsik direnç, bir türün tüm üyelerinde görülen, o türün fizyolojik veya biyokimyasal yapısının bir fonksiyonu olarak görülen doğal bir fenomen olarak açıklanabilir (43). Örneğin, *Enterococci*, penisilin bağlayan proteinlere

karşı azalmış bağlanma afinitesi olması nedeniyle intrinsik olarak sefalosporinlere dirençlidir. Öte yandan, edinilmiş direnç, düzenleyici ya da yapısal genlerin mutasyonu sonucu ve/veya yabancı bir direnç geninin kazanılması sonucu oluşabilir (43). Edinilmiş direnç, türün tümünde değil, ancak duyarlı bir öncülden türeyen bir bakteri soyunda görülür.

2.7.1. Antimikrobiyal Direncin Horizontal Transferi

Sekanslanan çoğu bakteriyel genom, farklı kaynaklardan elde edilmiş DNA segmentleri içermektedir (44). Horizontal olarak elde edilen bu DNA parçalarının genellikle organizmaya selektif avantajlar sağlayan, antibiyotik direnci, virulans ve biyolojik yıkım yolları gibi fonksiyonları kodladığı tespit edilmiştir. Horizontal gen transferi için en sık 3 mekanizma: (1) transformasyon, bakterinin ortamdaki serbest DNA' yı direkt olarak alması; (2) transdüksiyon, bir bakteriden diğerine bir bakteriyofaj ile bakteriyel DNA transferi ve (3) konjugasyon, hücre-hücre temas kurularak genetik materyalin aktarılması sayılabilir. Birçok sayıda farklı DNA parçaları bakterilerdeki direnç gelişiminde önemli rol oynamaktadır (44). Bu genetik elemanlar içerisinde plazmidler, transpozonlar, genomik adalar, faj, integronlar ve gen kasetleri yer almaktadır.

2.7.2. Plazmidler

Plazmidler, kromozomdan bağımsız olarak replikasyon yapan ekstra-kromozomal DNA molekülleridir (45). Tipik olarak süperkoil yapıda, sirküler ve çift sarmallıdırlar. Bununla birlikte, *Borrelia* ve *Streptomyces*'te lineer plazmidler de bulunmuştur (45). Tek bir hücrede, büyük plazmidler için genellikle bir kopyadan, yüzlerce kopyaya kadar plazmid bulunabilir. Hücreler birden fazla plazmid tipi barındırabilir. Beşten birkaç yüz kilobaz çiftine kadar farklı boyutta olabilirler ve genellikle bakteriyel büyüme için elzem olan RNA polimeraz, ribozomal alt birimler veya trikarboksilik asid döngüsünde yer alan enzimlerin sentezi gibi bakteri için hayati önem arz eden fonksiyonları kodlamazlar. Bunun yerine, plazmidler antibiyotik direnci aktaran genler gibi bakteriye selektif avantajlar sunabilecek genlerin aktarımında rol oynarlar. Plazmidler ile taşınan diğer fonksiyonlar: antibiyotiklerin sentezi, bakteriyel patogeneizde sorumlu toksin ve proteinlerin sentezi, değişik karbon kaynaklarından faydalanmayı sağlayacak enzimlerin sentezi ve ağır metallere dirençtir.

Bazı plazmidler aktarılabilmelidir. Bu plazmidler hücreler arasında kendilerinin ve diğer DNA elemanlarının transferini sağlayan genleri (*tra* genleri) taşır (46). Transkonjugasyon en sık bu tip plazmidler vasıtasıyla gerçekleşir. Bazı plazmidler ise sadece hareket ettirilebilir. Bu plazmidler ise transfer için gerekli olan proteinlerin sadece bir kısmını kodlarken, bir bakteriden diğerine aktarılırken aktarılabilen plazmidlerin yardımına ihtiyaç duyarlar (46).

Direnç genleri taşıyan plazmidlere R plazmidleri denir (43). İlk olarak R faktörü olarak adlandırılan bu plazmidler ilk kez 1950 yılında *Shigella flexneri* suşlarında keşfedilmiştir (47). Bu tarihten itibaren, artan bir şekilde hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakteriyel patojenler ve kommensal organizmalar ile ilişkilendirilmişlerdir. Neredeyse klinik kullanımda olan tüm antibiyotikler için plazmid ilişkili direnç genleri saptanmıştır; buna yeni çıkan kinolonlar da dâhildir. Tek bir plazmidin eş zamanlı olarak birden fazla antibiyotiğe karşı direnç gelişimine aracılık edip farklı bakteriyel türler arasında paylaşılmasına sebep olması seyrek değildir (43). Direnç genlerinin taşınmasına ek olarak, plazmidler transpozon ve integronlar gibi antimikrobiyal dirençte önemli rol oynayan elemanların taşınmasında araç olarak görev görebilir.

2.7.3. Transpozonlar

Transpozonlar bölgeye özel ekleme ve çıkarmaların yapılabildiği, bölgeye özel transpozazı kodlayan mobil, genetik DNA elemanlarıdır (44). Üç farklı transpozon tipi mevcuttur: İnsersiyon sekans elemanları, kompozit transpozonlar ve non-kompozit transpozonlar.

Transpozonlar, rastgele aktarılan plazmidlerin transferi sırasında veya fajın transdüksiyonu yoluyla birçok farklı bakteri türüne aktarılabılır. Ayrıca, bazı transpozonların kendisi konjugasyon yapabilir veya faj oluşturmak için indüklenebilir (43). Konjugasyon yapan transpozonların donör hücrenin genomundan ayrılma, yakındaki bir bakteri ile konjugasyonu kolaylaştırma, konjugasyon sonrası alıcı kromozom veya plazmid içine entegre olma yetenekleri vardır.

2.7.4. Gen Kasetleri ve İntegronlar

Gen kasetleri, bir genetik bölgeden diğerine hareket esnasında meydana gelen ayırık, serbest, sirküler yapıda, replikasyon yapmayan DNA molekülleridir (48). Gen kasetleri sadece

entegre olduklarında integronlar içinde yer alırlar. Normalde sadece bir gen ve 59 baz eleman adı verilen, *attC* adında spesifik bir rekombinasyon bölgesi olarak işlev gören kısa bir sekans taşırlar. Kasetler küçük, normalde 500-1000 bp boyutlarındadır. Gen kasetleri üzerinde taşınan genler genellikle promotordan fakirdir ve integron üzerindeki bir promotordan eksprese edilirler.

İntegronlar, gen kasetlerini yakalama ve mobilize etme yetenekleri olan fakat kendileri hareketli olmayan genetik elemanlardır (48) (49). Bir integron (1) integras adlı bir enzimi kodlayan ve bölgeye spesifik rekombinasyon olaylarını düzenleyen (integras integrondan gen kasetini kesip integrona yapıştırmayı sağlar); (2) Attachment Integron teriminin kısaltması olarak *attI* adında bir bölge (gen kasetleri şeklindeki ek DNA'nın entegre olmasını sağlar) içeren genetik eleman olarak tanımlanır. Kasetlerin üzerinde taşınan genler için promotorlar genellikle *intI* geninin içinde bulunurlar.

İntegronlar iki ana grupta incelenebilir: çoğunlukla antibiyotiklere karşı direnç sağlayan genleri kodlayan gen kasetleri taşıyan ve hem kromozom hem de plazmid üzerinde bulunabilen integronlar ve kromozomlarda yerleşmiş olan ve birçok fonksiyona sahip gen kasetlerini içeren süper-integronlar (49).

İlk süper integronlar *V. cholerae*' da bulunmuş ve Sınıf 4 integronlar olarak tanımlanmıştır (49). Her ne kadar süper-integronlar çok büyük olup yüzlerce açık okuma çerçeveleri içerebilse de *Shewanella oneidensis*' te bulunan süper-integronlar sadece 3 adet gen kaseti içermektedir. Birçok bilim adamı bu süper-integronları, direnç integronları için gen kaseti rezervuarı olarak değerlendirmektedir.

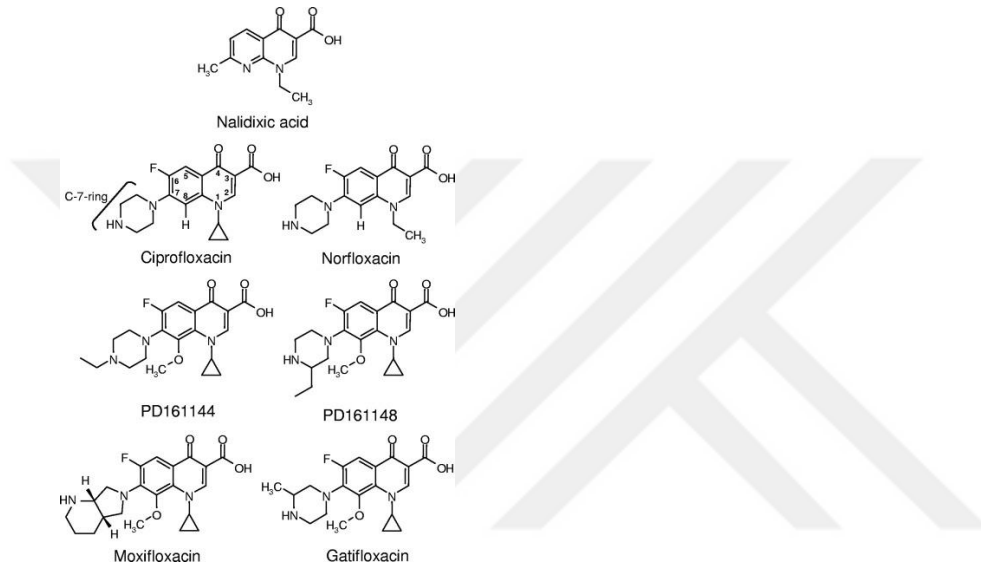
2.8. Kinolonlar

Kinolonlar tıpta çeşitli enfeksiyonların tedavisinde 1960'lı yıllardan beri kullanılan geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. Bu grubun ilk üyesi olan nalidiksik asit, 1962'de antimalaryal bir ajan olan klorokinin saflaştırılması esnasında elde edilen ara üründen üretilmiştir. Nalidiksik asit, dar spektrumlu bir ilaç olup idrarda yüksek yoğunluklara ulaşabildiğinden İYE' ye sebep olan çoğu *Enterobacteriaceae* üyesine karşı kullanımı öne çıkmıştır. Kinolonların yıllar içerisinde yapısının geliştirilmesiyle etki spektrumu genişletilmiş, dolayısıyla da kullanımı yaygınlaşmıştır. Oral ve intravenöz kullanılabilmesi, yüksek oral biyoyararlanımı, dokularda yüksek konsantrasyona ulaşabilmesi, geniş etki

spektrumu, yüksek etki gücü, düşük yan etki ve iyi tolere edilmeleri nedeniyle de klinikte sık tercih edilen ajanlardan olmuşlardır (50).

2.8.1. Kimyasal Yapı

Klinik kullanımdaki tüm kinolon türevleri, 1. pozisyonda bir azot, 4. pozisyonda bir karbonil grubu ve ilk halkanın 3.pozisyonundaki karbon atomuna bağlı bir karboksil grubunun bulunduğu çift halkalı bir yapıdan oluşur (Şekil 1).



Şekil 1: Kinolonların biyokimyasal yapısı (<http://aac.asm.org>)

Çeşitli ikili halka yapıları (cinnoline [1. ve 2. pozisyonda azot atomları], pyridopyrimidine [1, 6, ve 8. pozisyonda azot atomları], ve 2-pyridone [ikili halka yapısının birleşim yerinde bir azot atomu]) geliştirilmiş fakat, ikinci halkada 8. pozisyonda bir karbon atomu bulunduran kinolonlar ve aynı yerde bir azot atomu bulunduran naftiridinler en yaygın kullanılanlar olmuştur (51).

Nalidiksik asid 1-etil ve 7-metil değişken gruplarını içeren bir 1,8-naftiridin molekülüdür (Şekil 1). Potens, 6.pozisyonda flor eklenmesi ile büyük oranda arttırılmıştır. Gram negatif etkinlik ise ek olarak 7.pozisyonda piperazinil (norfloksasin, enoksasin, siprofloksasin), metil-piperazinil (perfloksasin, ofloksasin, lomefloksasin, fleroksasin, temafloksasin, levofloksasin, grepafloksasin, gatifloksasin) veya dimetil-piperazinil (sparfloksasin) grubu eklenmesiyle artırılmıştır. Piperazin halkasındaki 1-metil grubu genellikle artmış oral biyoyararlanım ile ilişkilendirilmiştir. Yedinci pozisyonda yer alan

pirolidinil (tosufloksasin, klinafloksasin, gemifloksasin) veya ikili halka grupları (trovafloksasin, moksifloksasin, sitafloksasin) Gram pozitif bakterilere karşı etkinliği arttırmaktadır. Bileşiklerin bir kısmı (sparfloksasin, gatifloksasin, moksifloksasin, gemifloksasin) orijinal olarak siprofloksasin için tanımlanan ve Gram negatif bakterilere karşı etkinliği yükselten 1-siklopropil grubunu kullanmaktadır. Temafloksasin, tosufloksasin ve trovafloksasinde bulunan 1-diflorofenil grubu da gram pozitif etkinliği artırmaktadır. Ofloksasin ve levofloksasinde 1. ve 8. pozisyonları birbirine köprüleyen ek bir halka bulunmaktadır. Bu halka ofloksasinde asimetrik karbon atomu taşıdığından dolayı stereoizomerik form oluşturmaktadır. Böylece, ofloksasin biri bakterilere ve saflaştırılmış DNA giraza karşı etkinliğinden sorumlu, iki stereoizomerin rasemik bir karışımı haline gelmektedir. Levofloksasin ofloksasin stereoizomerlerinden daha potent olduğu için, in vitro ortamda ofloksasine göre iki kat daha fazla potense sahip olduğu tahmin edilmektedir. Beşinci pozisyonda, hidrojen atomunun bir amino grubu (sparfloksasin) veya bir metil grubu (grepafloksasin) ile değiştirilmesi ile Gram pozitif bakterilere karşı etkinliği artırmaktadır. Sekizinci pozisyonda bir halid (klor-klinafloksasin, floro-sparfloksasin ve sitafloksasin) veya bir metoksi (gatifloksasin) grubu eklenmesi ile anaerobik bakterilere karşı etkinlik artırılmıştır (52) (53).

Nalidiksik asit ve sinoksasin gibi ilk üretilen kinolonların (1.kuşak) antimikrobiyal aktivitesi aerobik Gram-negatif bakterilere karşı mükemmel iken, Gram-pozitif ya da anaerobik bakterilere karşı aynı etkinlik elde edilememiştir (54). Norfloksasin, siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin, lomefloksasin ve perfloksasinin yer aldığı ikinci kuşak kinolonlar hem Gram-negatif hem de Gram-pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal etkinlik göstermiş ancak anaerobik bakterilere karşı etkinlik elde edilememiştir.

Altıncı pozisyonadaki karbon atomuna flor eklenmesi ile ilk ‘florokinolon’ olan norfloksasin elde edilmiştir. Grepafloksasin, gatifloksasin, sparfloksasin ve temafloksasin gibi üçüncü kuşak kinolonların üretilmesi ile Gram-pozitif bakterilere, özellikle de pnömokoklara, karşı daha güçlü etkinliğe ulaşılmış, buna ek olarak da kuvvetli anaerobik etkinlik elde edilmiştir. Dördüncü kuşak kinolonların da (trovafloksasin, klinafloksasin, sitafloksasin, moksifloksasin ve gemifloksasin) yeterli anaerobik etkinliği ve artmış pnömokokkal etkinliği mevcuttur (Tablo V) (51)

Tablo V: Kinolonların jenerasyonlara göre gruplandırılması (51)

Jenerasyon	Örnek
Birinci kuşak	Nalidiksik asit
İkinci kuşak	Norfloksasin, Siprofloksasin*, Ofloksasin, Levofloksasin
Üçüncü kuşak^	Sparfloksasin, Gatifloksasin, Grepafloksasin
Dördüncü kuşak"	Trovafloksasin, Moksifloksasin, Gemifloksasin

**Pseudomonas aeruginosa*’ ya karşı en potent

^*Streptococcus pneumoniae* ve anaeroblara karşı daha potent

"*Streptococcus pneumoniae* ve anaeroblara karşı en potent

2.8.2. Kinolonların Moleküler Etki Mekanizmaları

Çift sarmal yapıdaki sirküler bakteri DNA’ sının tek ya da her iki sarmalını da kesebilen, supercoilleri açan ya da ortadan kaldıracı, daha sonra kesilmiş DNA parçalarını birleştirebilen birçok sayıda bakteri DNA topoizomerazları tespit edilmiştir. DNA giraz ilk kez 1976'da Gellert ve ark. ları tarafından tanımlanmıştır (55). DNA giraz enzimi iki A (GyrA) alt birimi ve iki B (GyrB) alt biriminden oluşmaktadır. A alt birimleri *gyrA* ve B alt birimleri *gyrB* geni tarafından kodlanmaktadır. DNA replikasyonunun terminal döneminde ana DNA'ya bağlı yavru DNA’nın kopmasından topoizomeraz IV sorumludur. Topoizomeraz IV, iki ParC ve iki ParE alt birimlerinden oluşmaktadır. ParC alt birimlerini *parC* geni, ParE alt birimlerini ise *parE* geni kodlamaktadır. ParC ‘nin GyrA ve ParE ‘nin GyrB ile yapısal benzerliği bulunmaktadır (52).

Kinolonlar, topoizomeraz II (DNA giraz) ve topoizomeraz IV’ ün çalışmasını inhibe ederek işlev görürler. Gram-negatif bakteriler için kinolonların primer hedefi DNA girazken, Gram-pozitif bakterilerde bu hedef topoizomeraz IV’ tür (54). Kinolonlar giraz/topoizomeraz IV-DNA kompleksine bağlanarak etki gösterirler. Kinolon-giraz/topoizomeraz IV-DNA kompleksinin oluşması DNA replikasyonunun inhibisyonundan sorumludur. Bu kompleks ayrıca kinolonların bakteriyostatik etkisinin de oluşumunu sağlamaktadır (56). Aslında DNA sentezinin inhibisyonu tek başına bakteri ölümü için yeterli değildir. Olasılıkla yeni sentezlenen bir takım gen ürünlerinin de hücre ölümünde rol oynadığı düşünülmektedir. Ancak bu gen ürünleri henüz tespit edilememiştir. Bu konudaki diğer bir teori de kinolonların bakterisidal etki göstermeleri için bakteriyel otolizinleri indüklenmesidir. Dolayısıyla kinolonların bakterisidal etkinliğinde eşlik eden farklı mekanizmaların da rol oynadığı bildirilmektedir (52).

İnsan hücrelerinde DNA giraz bulunmayıp aynı görevi bu enzime benzeyen başka bir topoizomera II türü yerine getirmektedir. Klinik kullanımda olan kinolonların bu enzimlere etkinliği, bakteri DNA girazıninkine göre 54-2460 kat daha düşüktür. Bu durum, kinolonların bakterisidal etkilerini seçici olarak sadece bakteride oluşturmalarını ve insan hücresi üzerinde belirgin bir toksik etki yapmamalarını açıklamaktadır (57).

Birinci kuşak kinolonlar üriner enfeksiyonların tedavisinde, nalidiksik asit basilli dizanteri tedavisinde 1960'lı yıllarda kullanılmaya başlanmıştır. Ülkemizde ilk kez 1986'da ofloksasin ruhsat almış, bunu diğerleri izlemiştir (52). Kinolonların minimum bakterisidal konsantrasyonları genellikle MİK değerlerinin 2-4 katı kadardır ve öldürme hızları ilaç konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Ancak MİK değerlerinin 30 katından fazla olan konsantrasyonlarda protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki oluşturmaktadırlar (51). Yeni kuşak kinolon türevleri, genitoüriner, gastrointestinal, solunum sistemi enfeksiyonları, kemik ve eklem enfeksiyonlarının yanı sıra deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, menenjit, endokardit, oftalmik enfeksiyonlar gibi pek çok enfeksiyon tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (54).

2.8.3. Kinolonlara Direnç Mekanizmaları

Kinolonlar ile bakteriyel enfeksiyonlara karşı elde edilen başarı, bu ilaçların artan oranda ve kapsamı genişletilerek kullanılmasına neden olmuştur. Bu durum da, bu antimikrobiyallere karşı dirençte artışa yol açmıştır (51). Dünya'nın birçok bölgesinden kinolonlara karşı yüksek oranlarda direnç geliştiği bildirilmiştir (58) (59).

Kinolon direnci genellikle aşamalı şekilde gerçekleşen kromozomal mutasyonlar sonucu oluşmaktadır (60). Günümüze kadar 3 adet kromozom aracılı kinolon direnç mekanizması tanımlanmıştır: kinolonların hedef bölgelerinde değişiklikler ve membran impermeabilitesi ya da efluks pompa sistemlerinin aşırı çalışması yüzünden kinolonların azalmış akümüasyonu.

2.8.3.1. İlaç Hedefinde Değişikliğe Yol Açan Mutasyonlar

Bakterilerin çoğu DNA giraz ve topoizomera IV enzimlerinin her ikisine de sahiptir. Ancak, çok az sayıda bakteride sadece DNA giraz enzimi vardır. Kinolonlar, Gram-negatif

bakterilerde, topoizomeraz IV' e göre giraz enzimini daha güçlü inhibe ederler. Kinolon direncine neden olan mutasyonların çoğu giraz enzimini kodlayan genlerde olmaktadır. Genel olarak tek bir enzimin mutasyonu 10 katlık ilaç direnci sağlamakla beraber, yüksek düzey dirençli suşlarda (yaklaşık 10-100 kat) genellikle her iki enzimde mutasyonlar olmaktadır (61).

Günümüzde en iyi bilinen kromozomal mutasyonlar GyrA alt ünitesinde görülen mutasyonlardır. Dirençli bakterilerde, enzimin amino ucundaki aktif bölgesinde bulunan tirozin molekülünün (Tyr-122) çevresi GyrA'daki aminoasit değişimlerinin en sık gerçekleştiği bölgedir (62). *gyrA* 'da Ala67-Gln106, *gyrB* 'de ise Asp426-Lys447 aminoasitleri QRDR [Quinolone Resistance Determining Region: Kinolon Direnci Belirleyici Bölge (QRDR)] olarak bilinmektedir. Hedef bölge değişiklikleri baskın bir şekilde, aminoasit değişiklikleri yoluyla kinolonların bağlanmasının zayıflatılabildiği ve bunun sonucunda kinolon direnci gelişmesine neden olan, topoizomeraz üzerinde DNA bağlama yüzeyinin bir bölümü olan QRDR bölgesinde olmaktadır (60). Aktif bölgede meydana gelen mutasyonlar enzimin hedef bölgeye bağlanmasını etkileyerek kinolonlara duyarlılıkta azalmaya dolayısıyla da dirence neden olmaktadır (63).

Gram negatif bakterilerde *gyrA* 'da ortaya çıkan tek mutasyonlar DNA girazın duyarlılığında azalmaya neden olur. Bu durum, nalidiksik asite karşı yüksek seviyeli dirence neden olur. Fakat florokinolonlarda yüksek düzeyde direnç elde edebilmek için *gyrA* ve/veya diğer topoizomeraz genleri gibi genlerde ek mutasyonlar gereklidir. Serin 83-Triptofan veya Lösin değişimi, GyrA 'da en sık görülen mutasyondur (64). Florokinolonlara yüksek düzeyde dirençli izolatlarda, GyrA 'da 83'ncü kodondaki mutasyonla birlikte bir diğer mutasyon da 87'inci kodondaki aspartatta gözlenmektedir. Bununla birlikte, Ser83'te tek mutasyon taşıyan izolatlar, Asp87'de tek mutasyon taşıyanlara göre florokinolonlara daha yüksek dirençli olmaktadır (63). Bu alanın hidrofobik yapısının mutasyon nedeniyle değişmesi sonucu GyrA alt ünitesinde lokal farklılık meydana gelmektedir (65).

gyrB geninde, *gyrA* 'ya oranla mutasyonlar daha seyrek görülmektedir. QRDR olarak bu gen bölgesinde, Asp426 ve Lys447 kodonları tanımlanmıştır. Asp426'da meydana gelen mutasyonların tüm kinolonlara karşı direnç sağlamakla, ancak Lys 447 mutasyonlarının, nalidiksik asit gibi asidik kinolonlara karşı direnç sağladığı, siprofloksasin gibi amfoterik kinolonlara karşı ise duyarlılıkta artışa neden olduğu gösterilmiştir (65). Yine de *gyrB* geninde oluşan mutasyonlara bağlı gelişen direnç tüm kinolonlara karşı olmayabilir.

Kinolonların bir diğer hedef enzimi olan topoizomeraz IV' te mutasyonlar *parC* ve *parE* genlerinde oluşmaktadır. Topoizomeraz IV genindeki mutasyonlar DNA giraz geninde mutasyon oluşmamış ise sessiz kalırlar ve MİK artışına neden olmazlar. Eğer DNA giraz ya da topoizomeraz IV genlerinin birinde mutasyon meydana gelirse diğer gendeki mutasyonun ortaya çıkma olasılığı artar ve direnç yüksek düzeyde gelişir. Böylelikle yeni kuşak kinolonlara da direnç meydana gelebilir (66).

Topoizomeraz IV'te mutasyonlar sıklıkla ParC bölgesinde meydana gelmektedir. Vahşi tipte ParC bölgesinde serin 80-fenilalanin veya tirozin ile değişimi en yaygın gözlenen mutasyondur. Bu mutasyonlar bazı florokinolonlara 8 kat direnç artışına sebep olur. Kinolonlara dirençli *Shigella flexneri*, *Haemophilus influenzae* ve *E. coli* kökenlerinde *parC* mutasyonları gösterilmiştir. Gram-negatif bakterilerde *parE* 'deki aminoasit değişimlerinin kinolon direncine önemli oranda katkı sağlamadığı ortaya konmuştur (60).

2.8.3.2. İlaç Birikimini Azaltan Mutasyonlar

2.8.3.2.1. Membran Permeabilitesinde Azalma

Membran permeabilitesinde azalma, kromozomal mutasyonlar sonucu Gram-negatif bakterilerin dış membran porinlerinde oluşan değişiklikler nedeniyle ortaya çıkan bir direnç mekanizmasıdır. Kinolonların hücre içine girmesi, dış membrandaki porinler aracılığı ile olmakta, porin proteinlerinde değişikliğe yol açan mutasyonlar kinolonların dış membrandan girişini azaltarak hedef enzimlere ulaşımını kısıtlamaktadır. *E. coli* 'de OmpA, OmpC ve OmpF gibi dış membran porin proteinlerinin ekspresyonundaki azalış membran geçirgenliği azaltmaktadır (60). Bu direnç mekanizması beta-laktamlar, tetrasiklinler ve kloramfenikol gibi diğer antibiyotikler için de geçerlidir (65).

2.8.3.2.2. Aktif Pompalama ile Antibiyotiğin Dışarı Atılması

Son yıllarda florokinolonların hücre içinde etkin konsantrasyona ulaşmasını engelleyen temel mekanizmanın aktif pompa sistemleri olduğu ortaya konmuştur. Hem Gram-pozitif, hem de Gram-negatif bakteriler özgül olmayan, enerji bağımlı aktif pompa (efluks) sistemlerine sahiptir. Aktif pompa sistemlerinden bazıları yapısal iken, bazıları mutasyonla indüklenebilir özellik taşır. Pompa sistemleri, substratları olan ilaçlardan herhangi birinin kullanımı ile indüklenebilir ve tüm substratlara karşı direnç gelişimine neden olur.

Pompa sistemlerinden AcrAB-TolC sistemi, *E. coli* 'de kinolonların hücre dışına atılmasında ana rolü üstlenmektedir. Bu pompa sistemi, *E. coli* 'nin doğal direncinde rol oynar ve bu pompa sistemini yüksek düzeyde eksprese eden suşlarda florokinolonlara ve diğer ajanlara yüksek düzeyde direnç gelişir. *acrR* geninde (*acrAB* baskılayıcı bir gen olan) meydana gelen mutasyonlar pompa aktivitesini artırmaktadır (65).

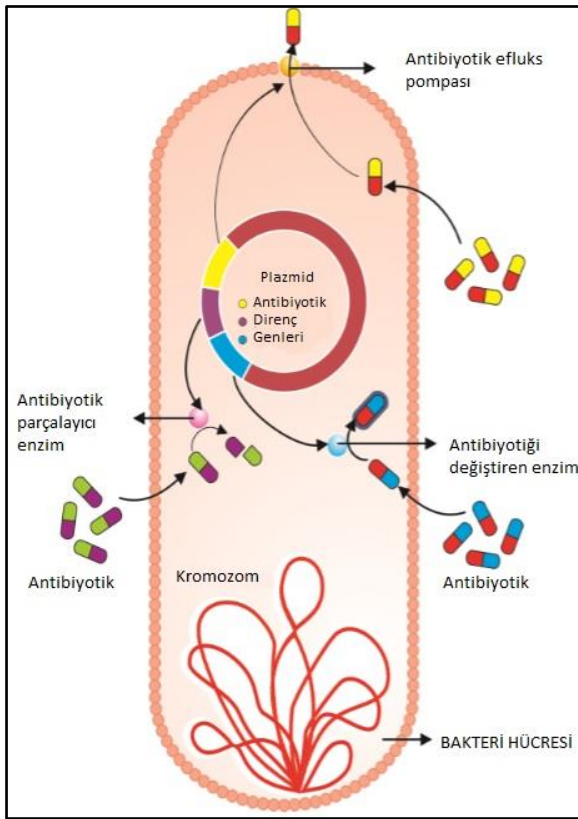
Dirençli klinik *E. coli* izolatlarında hedef değişikliği ile birlikte aktif pompa aktivasyonu genellikle birlikte bulunmaktadır. Ancak fonksiyonel bir pompa sistemi bulunsa bile, *gyrA* 'da gelişen tek mutasyon orta derecede dirence neden olmakta, hatta bu izolatlar klinik olarak duyarlı kabul edilebilmektedirler ($MİK \leq 1 \mu g/ml$). *gyrA* 'da ikinci bir mutasyon veya eşlik eden *parC* mutasyonu ise klinik dirence yol açmaktadır ($MİK \geq 4 \mu g/ml$). Genellikle daha dirençli izolatlar daha fazla mutasyon içermektedir (67).

2.8.3.3. Hücreyi İlacın Letal Etkilerinden Koruyan Plazmid Aracılı Direnç Genleri

Plazmid ilişkili kinolon direncinin varlığı ilk olarak 1998 yılında, Alabama Üniversitesi'ndeki bir hastanın idrar örneğinden 1994 yılında izole edilen siprofloksasine dirençli bir *K. pneumoniae* izolatında keşfedilmiştir. Bu plazmidle *E. coli* ve diğer Gram-negatif bakterilere, PMQR [Plazmid-Mediated Quinolone Resistance; Plazmid Aracılı Kinolon Direnci (PMQR)] transferi yapılabildiği gösterilmiştir (68). Kinolonlara dirençte yeni bir dönem açan bu çalışmada suşta saptanan pMG252 plazmidinin kinolonlara, beta-laktamlara, aminoglikozitlere, sülfonamidlere, trimetoprim ve kloramfenikole direnç genlerini taşıdığı görülmüştür. Test edilen tüm kinolonların MİK değerini yükseltmesi, kinolonların intrasellüler konsantrasyonlarına etki etmemesi, dış membran porininin ekspresyonunu ve *E. coli* türlerinde *gyrA*, *gyrB*, *parC*, *ompF*, *ompC* ya da *marR* mutasyonlarıyla birlikte direnci arttırması nedeniyle yeni bir direnç mekanizması olarak isimlendirilmiştir (69). Plazmid aracılığıyla aktarılan bu direnç genine *qnr(qnrA1)* ismi verilmiştir. *qnr* geni, 218 aminoasitten oluşan tekrarlayan pentapeptid ailesine ait bir Qnr proteinini kodlamaktadır. *İn vitro* olarak, saf hale getirilmiş Qnr proteinin DNA giraz veya topoizomeraz IV'e bağlanarak bu enzimleri siprofloksasinin inhibisyonundan koruduğu gösterilmiştir (70). Bunları takiben, yüksek düzeyde siprofloksasin direnci gözlenen bir bölge olan Şangay'da yapılan bir çalışmada *E. coli* klinik izolatlarında *qnr* geni tespit edilmiştir (71).

Alabama ve Şangay'daki *qnr* geni taşıyan plazmidlerin birbirlerinden çok farklı olmalarına rağmen, *qnr* gen aminoasit dizilimlerinde tek bir nükleotid farkı olduğu

gösterilmiştir. Daha sonra *qnr* geni Amerika Birleşik Devletleri'nde, *K. Pneumoniae* (72) ve *E. cloacae* (73) izolatlarında tespit edilmiştir. Ardından Mısır (74), Kore (75) ve Hollanda'dan (76) yapılan bildirimlerle *qnr* 'in geniş bir coğrafi alana yayıldığı gözlenmiştir. *qnr* genleri, SHV, CTX-M, FOX, KPC, VEB, OXA, DHA gibi birçok farklı tipte beta-laktamazla birlikte bulunmaları yanında, *aadA1*, *aadA2*, *dfrA1*, *dfrA12*, *cmlA1*, *catB2*, *aac(6')-Ib-cr*, *sulI* gibi birçok farklı antimikrobiyal direnç geni ile de taşınır ve ORF513 yakınında integron benzeri bir yapıda yer alır (77). *qnr* proteini tek başına düşük düzey kinolon direncine neden olmasına rağmen, kromozomal mutasyonların birlikte olması yüksek düzey kinolon direncine yol açmaktadır (78).



Şekil 2: Kinolon direnç mekanizmaları (<http://www.intechopen.com>)

2.8.3.3.1. *Qnr Genleri*

İlk saptanan PMQR determinantı *qnrA1*, çoklu ilaç direnci olan *K. pneumoniae* izolatlarında FOX-5 tipi beta laktamaz kodlayan 56 kb'lık pMG252 plazmidi araştırılırken bulunmuştur. Daha sonra bu plazmidle transkonjugatlara, kinolonlara karşı düşük seviyeli direnç transferi yapılabildiği gösterilmiştir (68). Transkonjugatlarda nalidiksik asit, norfloksasin, siprofloksasin, klinofloksasin, levofloksasin, pefloksasin ve trovafloksasin için

MİK değerlerinin 4 ila 16 kat arttığı saptanmıştır. Anlamlı klinik direnç oluşturacak kadar MİK artışına sebep olmamasına rağmen yüksek düzey kinolon direncinin seleksiyonunu kolaylaştırmaktadırlar (79). pMG252 plazmidinin kinolonlara, beta-laktamlara, aminoglikozitlere, sülfonamidlere, trimetoprim ve kloramfenikole direnç geni taşıdığı görülmüştür (2). *qnrA1*'in tekrarlayan pentapeptid ailesine ait 218 aminoasitlik bir proteini kodladığı belirlenmiştir (69). Bu proteinlerin biyokimyasal işlevi tam olarak ortaya konulamamıştır.

Günümüze kadar literatürde gittikçe artan sayıda *qnr* determinantları (plazmid yerleşimli ya da değil) yayımlanmıştır. Karışıklığı önlemek ve ortak bir dil oluşturmak amacıyla 2008 yılında bir veri bankası kurulmuştur (www.lahey.org/qnrStudies) (80). *qnrA*'nın ardından 2005 yılında *qnrS*, 2006 yılında *qnrB*, 2008 yılında *qnrC*, 2009 yılında da *qnrD* genlerinin varlığı bildirilmiştir. Şu ana kadar bu veri bankasında 8 adet *qnrA*, 88 adet *qnrB*, 1 adet *qnrC*, 2 adet *qnrD*, 9 adet *qnrS*, 7 adet *qnrVC* determinantı yayımlanmıştır. Bazı Gram-pozitif veya Gram-negatif bakterilerin kromozomlarındaki *qnr* genleri, bakterinin baş harflerinin eklenmesi ile adlandırılmaktadır. Örneğin *Enterococcus faecalis*' te bulunan *Efsqnr* (81), *Photobacterium profundum*' a ait *Ppqnr* (82), *Vibrio parahaemolyticus*' ta bulunan *Vpqnr* (83).

Kromozoma yerleşik *qnr* ve ilişkili proteinlerin filogenetik analizi *qnr* homologlarının en az 92 Gram-negatif, Gram-pozitif ve zorunlu anaerobik bakteri türünün genomunda bulunabileceğini göstermiştir. *mfpA* geninin kodladığı *qnr* ilişkili pentapeptid tekrar proteini (PRP), en az 19 *Mycobacterium* ve birçok *Acinetobacter* türünde tespit edilmiş ancak fonksiyonu anlaşılamamıştır (84). *qnr* proteinlerinin tip II topoizomerazi koruyan veya SOS cevabında rol oynayan bir tür antitoksin olduğu ileri sürülmüştür. Bununla birlikte, *qnrB* proteinlerinin doğal oluşan DNA hasarlayıcı ajanlardan hücreyi koruyucu özelliği olması muhtemeldir (85). *qnr*' ın bu geniş dağılımı, kinolonların klinik kullanıma girmeden önceki dönemi işaret etmektedir. Hatta *qnrB* genleri ilk kez 1930 yılında izole edilen *Citrobacter freundii* suşlarında tespit edilmiştir (86).

2.8.3.3.1.1.. Etki Mekanizması

qnr genlerinin keşfedilmesinden sonra 6 büyük *qnr* familyası belirlenmiştir: *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrS* ve *qnrVC*. *qnrA*, *qnrS*, *qnrVC* ve özellikle *qnrB*; *qnrC* ve *qnrD*' den farklı olarak multipl alleller içermektedir. Qnr proteinleri PRP [Pentapeptide Repeat Protein;

Pentapeptid Tekrar Proteini (PRP)] ailesinin üyeleridirler ve ard arda tekrarlanan aminoasid sekanslarından oluşurlar (87). PRP ailesinin ilk üyesinin 3 boyutlu yapısı, *Mycobacterium tuberculosis*' ten elde edilen florokinolon direnç proteini (*MfpA*) için belirlenmiş ve pentapeptid tekrarlarının farklı olarak sağ taraflı quadrilateral beta sarmal şeklinde katlandığı tespit edilmiştir. *MfpA*, DNA giraza bağlanarak aktivitesini inhibe etmektedir.

qnrA, direkt olarak DNA' ya bağlanması, girazın DNA'ya bağlanmasını azaltması, kinolonlardan topoizomerez IV'ü koruması nedeniyle kinolonların DNA girazı inhibe etme yeteneğini geriye çevirebilir (88). Ayrıca DNA giraz holoenzimine ve alt birimleri olan Gyr A ve GyrB' ye bağlanabilir. Bu bağlanma gevşemiş DNA, siprofloksasin ve ATP' nin olmadığı ortamda gerçekleştiğinden, bir enzim-DNA-kinolon kompleksine ihtiyaç duymaz (70).

qnrB, *qnrA* ile %40, *qnrS* ile %37 oranında aminoasit benzerliği göstermekte ve 226 aminoasitten oluşmaktadır. İlk olarak 2002 yılında Güney Hindistan'da CTX-M-15 beta-laktamazını üreten bir *K. pneumoniae* suşunda tanımlanmıştır (89). *qnrC*, Çin'de üriner sistemden 2008 yılında izole edilen bir *Proteus mirabilis* suşunda saptanmıştır (90). *qnrD*, 2009 yılında Çin'de 2006-2007 yıllarında insandan izole edilen *Salmonella enterica serovar Bovismorbificans* (n:3) ve *Kentucky* (n:1) suşlarında saptanmıştır (91). *qnrS* proteini, *qnrA* gibi 218 aminoasitten oluşmakta ve *qnrA* ile %58 aminoasit benzerliği göstermektedir. İlk kez, Japonya'da 2003 yılında bir besin zehirlenmesi sırasında izole edilen *Shigella flexneri* suşunda tespit edilmiştir (92).

qnr proteinlerinin koruyucu aktivitesinin sınırlanmasına sebep olan, aynen kinolonların yaptığı gibi DNA üzerindeki girazı yarıklı kompleksler içine hapseden 2-piridon ABT-719, kinazolin-2,4-dion PD 0305970 ve spiropirimidintrion pirazinil-alkinil-tetrahidrokinolin gibi bileşiklerin varlığı *qnr* proteinlerinin kinolon spesifik olmadığını düşündürmektedir (93). *qnr* genleri, SHV, CTX-M, FOX, KPC, VEB, OXA, DHA gibi birçok farklı tipte beta-laktamazla birlikte bulunmaları yanında, *aadA1*, *aadA2*, *dfrA1*, *dfrA12*, *cmlA1*, *catB2*, *aac(6')-Ib-cr*, *sulI* gibi birçok farklı antimikrobiyal direnç geni ile de ilişkilendirilmiştir (94) (95) (96).

2.8.3.3.1.2. *Qnr Genlerinin Doğal Rolünün Düzenlenmesi*

Çevresel şartlar *qnr* genlerinin ekspresyonunu etkileyebilir ve doğal fonksiyonları hakkında ipuçları sunabilir. SOS sistemi bakterinin kinolon gibi antimikrobiyal ajanların da neden olduğu, saldırı altında olduğu durumlarda başvurduğu müthiş bir doğal stratejidir (97). *qnrB* ve *qnrD* varyantlarının da içinde bulunduğu bazı *qnr* genleri promotor bölgelerinde bir LexA-bağlanma bölgesi taşır. LexA, DNA hasarına karşı SOS cevabında merkezi düzenleyici olarak rol oynar. Bu *qnr* genleri SOS cevabı süresince LexA/RecA-bağımlı şekilde regüle edilir ve SOS sisteminin iyi bir indükleyicisi olduğu bilinen siprofloksasin ile indüklenebilir. Ekspresyon, siprofloksasin ve mitomisin C gibi DNA hasarlayıcı ajanlara maruziyet ile 9 katına kadar çıkarılabilir (98).

Florokinolonlarla ek olarak, beta-laktamlar veya trimetoprim de SOS bağımlı regülasyonu kullanarak *qnrB* veya *qnrD* transkripsiyonunu indükleyebilir (98). Bu bilgiler ışığında, *qnr* genlerinin doğal rolü hakkındaki soru yine de cevapsız kalmaktadır. Bazı roller aşağıdaki bakış açılarıyla ilişkilendirilmiştir: (1) *S. algae*, *S. maltophilia* ve *Vibrionaceae* ailesi gibi türlerde kromozomal yerleşimli *qnr* genlerinin var olması, *qnr* genlerinin patojenik bakteriler tarafından, içme suyu ya da diğer çevresel ortamlarda yaşayan mikroorganizmalardan edinildiğini düşündürmektedir; (2) *qnr* proteinlerinin DNA giraz ve topoizomerazı doğal oluşan toksinlerden koruyan bir antitoksin olduğu öne sürülmüştür (99). Ancak gerçekten koruyan teorik toksin henüz bulunamamıştır; (3) plazmid kaynaklı *qnrB* allelleri SOS yanıtında görev alan LexA bağlanma bölgelerini taşır. Bu yüzden *qnrB*'nin hücreyi doğal oluşan DNA hasarlayan ajanlardan korumada doğal bir görev aldığı tahmin edilmektedir (100); (4) *S. algae*'nin büyüme durması boyunca soğuk şok *qnrA* ekspresyonunu indükler. Bu durum *Shewanella*'nin düşük sıcaklıklara adaptasyonunu sağlamadan katkıda bulunmaktadır (85).

2.8.3.3.2. *Diğer PMQR Genleri*

2.8.3.3.2.1. *Kinolonların Asetilasyonu[aac(6')-Ib-cr]*

Aminoglikozid asetiltransferazın bir varyantı olan *aac(6')-Ib-cr*'de tobramisin ve kanamisin direncine neden olan klasik *aac(6')-Ib*'den farklı olarak iki aminoasid değişikliği vardır (Trp102Arg ve Asp179Tyr (101)). Bu iki yönlü enzim, siprofloksasini, norfloksasin ve

diğer kinolonları piperazinil değişkeninin üzerindeki ikincil amino nitrojen N4 düzeyinde asetilleme yeteneğine sahiptir. Bu değişkene sahip olmayan kinolonlar (ör: levofloksasin) asetiltransferaz enziminden etkilenmezler. Aynen *qnr* proteinleri gibi, *aac(6')-lb-cr*'den etkilenen kinolonların MİK değerinde sadece hafif bir artmaya neden olur. Enzim aktivite modelleri, Asp179Tyr değişikliğinin kinolon bağlanmasını kolaylaştırmak için kinolon halkası ile π -stacking etkileşimine izin vermede hayati önem taşıdığını öne sürmektedir. Trp102Arg'nin rolü ise Tyr yüzünün optimal etkileşimi için pozisyon verme veya kinolonu bir arada tutabilmek için keto ya da karboksi grubuna hidrojen bağları eklemektir (102).

aac(6')-lb'nin 7 farklı allelik varyantı benzer düzeyde kinolon direncine sebep olur ve her iki spesifik modifikasyonu da içerir (103). *aac(6')-lb*' ye karşılık gelen Trp128Arg ve Asp205Tyr değişikliklerini içeren, yirmi altı amino asit daha büyük *aac(6')-lb-cr4* varyantı da mevcuttur (104).

2.8.3.3.2.2. *QepA* ve *OqxAB* Efluks Pompaları

QepA, Majör Kolaylaştırıcı Süper Aile [Major Facilitator Superfamily; (MFS)] taşıyıcılarının, 14 transmembran segmentli bir üyesi olarak kabul edilmektedir. Hidrofilik kinolonları (siprofloksasin ve özellikle norfloksasin) hücre içinden dışarıya aktif bir efluks mekanizması ile atarak, MİK değerinde orta düzeyde (2-64 kat) bir artışa sebep olur (105) (106). Farklı *qepA* transkonjugatlarının neden olduğu kinolon direncindeki mevcut farklılıklar, henüz açıklanamayan mekanizmalarla, *qepA* ekspresyonu düzeyinde çeşitlilikler olduğunu düşündürür (107).

OqxAB, sıklıkla *K. pneumoniae*' da tespit edilen, taşıyıcıların Direnç-Nodülasyon-Bölme [Resistance-Nodulation-Division; (RND)] sisteminde yer alan bir efluks sistemidir. *OqxAB* ilk olarak domuzlarda büyümeyi hızlandırmak için kullanılan olakindoksa karşı dirençten sorumlu aktarılabılır plazmidlerde bulunmuştur (108). *OqxAB*, sadece siprofloksasin, flumekin, norfloksasin ve nalidiksik asit gibi kinolonlara değil kloramfenikol ve trimetoprim karşı da geniş bir spesifiteye sahiptir (109). Karşılık gelen gen sadece plazmidlerde değil, sıklıkla ekspresyonda 20 kata kadar varyasyonun görüldüğü *K. pneumoniae* kromozomunda da bulunur. GSBL üreten *K. pneumoniae* 'da *OqxAB* efluks pompası (hem kromozomal hem de plazmid aracılı) yüksek prevalansta (genellikle %70 veya daha fazla) bulunur ve bu organizma bu genlerin yayılması için rezervuar görevi görür. GSBL

üreten *K. pneumoniae* klinik izolatlarında bu pompanın yüksek ekspresyonu kinolonlara karşı azalmış duyarlılık oluşmasına katkıda bulunur (110).

2.8.3.3.3. PMQR Genlerinin Genetik Zemini

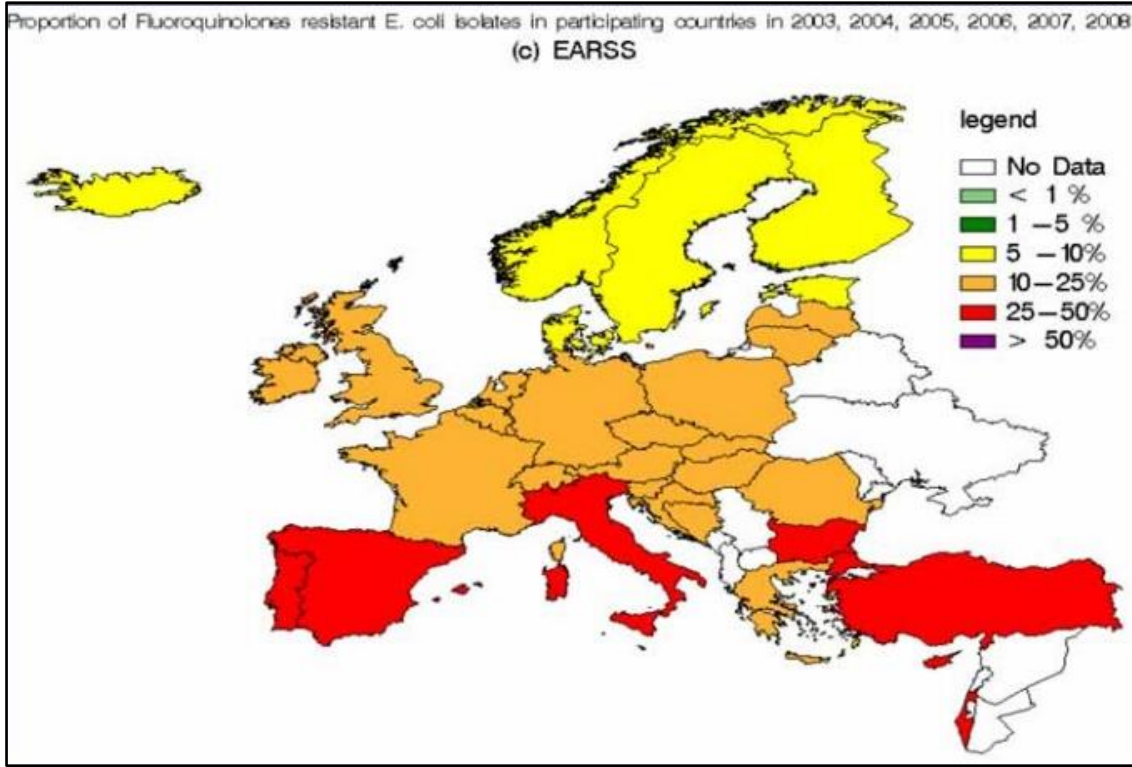
Kinolon direnç genleri, önemli ölçüde değişik boyutlardaki plazmidlerde bulunur ve neredeyse tümü multipl direnç determinantları taşır (111). Elde olan veriler, bu direnç mekanizmasının dünya çapında olmasından bu plazmidlerin yayılımının sorumlu olduğunu göstermektedir (112). Plazmid heterojenitesinin, PMQR için konak çeşitliliğine katkıda bulunmuş olma ihtimali vardır. Bu durum plazmid aktarımının bağımsız olarak defaatle gerçekleştiğini göstermektedir. Her ne kadar PMQR determinantları plazmidler üzerindeki hareketli birimlerle ilişkili olsa da bu genler, özellikle de *qnr*, belirli bir sıklıkta kromozomal bölgedeki kompleks yapılar içinde de (integronlar ya da transpozonlar) yer alabilir. Bu durum, PMQR genleri ile ilişkili hareketli yapıların esnekliğini ortaya koymaktadır.

qnrA’ yı kodlayan genler, tahmini rekombinaz *ISCR1*’i içeren *sulI*-tip integron kompleksinin bir parçası olarak bulunmuştur (113). Bir integrondaki direnç genleri tipik şekilde, integras ile ilgili olarak, en yakın 3’ bölgesinde, 59-baz elemanlı rekombinasyon bölgeleri ile ilişkilidir. Buna rağmen bu özelliklerin *qnrA* ve *qnrB*’ de olmaması geni harekete geçiren ve bir plazmide entegre eden alışılmadık bir mekanizmanın varlığını düşündürmektedir (113). *qnrA1* geni bazen *ISCR1*’ in iki kopyası arasında bulunur. *ISCR1* elemanı sadece gen mobilizasyonunda yer almaz aynı zamanda direnç geni ekspresyonunda aktif promoter olarak rol oynar (114). *qnr*-benzeri genler değerlendirildiğinde; *qnrB1* geni, putatif transpozaz kodlayan *orf1005* geni ile *qnrB2*, *qnrB4*, *qnrB6* ve *qnrB10* allelleri *ISCR1* ile ilişkili iken; *qnrB19* büyük plazmidlerin içinde *ISEcp1C* bazlı transpozonlarda, IS26 tarafından araya alınmış büyük plazmidlerde ve küçük ColE1-tipli plazmidlerde bulunur (111). *qnrA* ve *qnrB* genlerinin tersine, *qnrS* genleri *ISCR1* ile ilişkili değildir ve karmaşık integronların yapısında bulunmazlar. *qnrS1* geni bir Tn3-benzeri transpozon veya IS26, IS2 ya da *ISEec12* ile bağlantılıdır (115). *qnrC* geni IS3 ailesine ait bir insersiyon sekansı olan *ISPmi1*’in devamında bulunur (90). *qnrD* ilk kez küçük plazmidlerde bulunmuştur (91).

2.9. Dünyada Kinolon Direnci

Kinolonlara direnç, farklı hasta gruplarında yaygın olarak kullanımlarına bağlı olarak klinik kullanıma girdikleri 1980’li yıllardan beri belirgin şekilde artmaktadır (116). İngiltere

ve İrlanda'da 1990-1997 yılları arasında *E. coli* türlerinde kinolon direnci %0,8'den %3,7'ye çıkmıştır (117). National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) verilerine göre de 1992-2004 tarihleri arasında yoğun bakımlarda *E. coli* florokinolon direnci %7,3'den %19'a kadar artış göstermiştir (118). *E. coli* izolatlarında florokinolon direnci Avrupa'da son yıllarda sürekli ve ciddi anlamda artış göstermiştir. İki bin beş yılında direncin %5 ve altında olduğu dört ülke varken, 2008'de sadece dört ülkede (İzlanda %6 (n=115), Estonya %7 (n=252), Norveç %7 (n=1719) ve Finlandiya %9 (n=2109)) %10'un altında oranlar bildirmiştir. Avrupa'da 10 ülkede *E. coli* izolatlarında %25 i aşan florokinolon direnci mevcuttur. İtalya %38 (n=907), Kıbrıs %45 (n=116) ve Türkiye %52 (n=1372) gibi yüksek oranlar bildirmiştir. (119).



Şekil 3: EARSS verilerine göre 2003-2008 yıllarında katılımcı ülkelerde florokinolon dirençli *E. coli* izolatlarının oranı (119)

2.10. Türkiye’de Kinolon Direnci

Ülkemizde florokinolon direncinin, GSBL artışına paralel olarak gittiği görülmektedir. Bu durum, CTX-M-15 üreten ST131 klonunun yayılımı ile ilişkili bulunmuştur. Dünyanın çeşitli ülkelerinde salgınlar oluşturan ST131:025b klonunun ülkemizde de yayılmış olduğu

HITIT çalışması ile ortaya konmuştur (120). Bu klon toplum kökenli üriner sistem enfeksiyonlarından ve üriner sistem kaynaklı bakteriyemilerden sorumlu bir etken olarak karsımıza çıkmaktadır. ST131:025b klonunun bir diğer özelliği çoklu dirençli olmasıdır. Dirençli olduğu ajanlar arasında florokinolonlar, trimetoprim-sulfametoksazol ve bazen de aminoglikozidler sayılabilir (121). Dünyanın birçok bölgesinden, bu arada ülkemizden de bildirilmiş olan plazmid kökenli kinolon direncinin de CTX-M enzim üretimi ile yakın ilişkili olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (122). EARSS [European Antimicrobial Resistance Surveillance System; Avrupa Antimikrobiyal Direnç İzleme Sistemi (EARSS)] verilerine göre 2005-2009 yılları arasında Türkiye’de *E. coli* izolatlarının florokinolonlara direnç oranları Tablo VI’da belirtilmiştir (119).

Tablo VI: EARSS verilerine göre 2005-2009 yılları arasında Türkiye’de *E. coli* izolatlarının florokinolonlara direnç oranları

Yıllar	Laboratuvar sayısı	İzolat Sayısı	Florokinolon direnci (%)
2005	3	13	46
2006	14	454	23
2007	16	638	23
2008	16	709	26
2009		148	36

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bakteriyel kökenler

Ocak 2012-Aralık 2013 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarı stok arşivinde bulunan çeşitli klinik örneklerden (idrara, kan, yara, solunum yolu, steril vücut sıvısı, vb.) elde edilen 103 kinolon dirençli *Escherichia coli* kökeni çalışmaya dahil edildi. Her hastadan izole edilen tek köken çalışmaya dahil edildi. Disk difüzyon yöntemiyle siprofloksasin, levofloksasin, norfloksasin ve ofloksasin antibiyotiklerinden herhangi birine dirençli tespit edilen suşlar kinolon dirençli suşlar olarak kabul edildiler.

3.2. Bakteri Tanımlaması

Çalışmaya alınan laboratuvarımızda hazırlanmış olan süt kaymağı besi yeri (Becton Dickinson, ABD) içinde -20°C'den saklanan suşlar, koyun kanlı agarda (Salubris, Türkiye) damlatma yöntemiyle canlandırıldı. Laboratuvarımızda hazırlanan Eozin Metilen Blue (EMB) agara (Becton Dickinson, ABD) pasajlanarak saf kültürleri elde edildi. Canlandırılan suşların doğrulama amaçlı tanımlamaları biyoşimik testlerle biyokimyasal özelliklerine göre (glukoz, laktoz, sükröz fermentasyonu, indol/üre hidrolizi, sitrat kullanımı, hareket, lizin/ornitin dekarboksilaz aktiviteleri) yapıldı.

3.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

3.3.1. Kirby-Bauer Disk Difüzyon Yöntemi

Elde edilen tüm izolatların antibiyotik duyarlılık testleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile CLSI önerileri doğrultusunda yapıldı (123). Kalite kontrol suşu olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 suşu kullanıldı. Ampisilin (AMP, 10µg), ampisilin/sulbaktam (SAM, 10/10µg), sefazolin (CZ, 30µg), seftazidim (CAZ, 30µg), sefotaksim (CTX, 30µg), sefoksitin (FOX, 30µg), sefuroksim (CXM, 30µg), gentamisin (CN, 10µg), tobramisin (TOB, 10µg), amikasin (AK, 30µg), siprofloksasin (CIP, 5µg), levofloksasin (LEV, 5µg), norfloksasin (NOR, 10µg), ofloksasin (OFX, 5µg), nalidiksik asit (NA, 30µg), piperasilin-tazobaktam (TZP 100/10µg), ertapenem (ERT, 10µg), imipenem (IPM, 10µg), meropenem (MP, 10µg), trimetoprim-sülfometoksazol (SXT, 1.25/23.75µg) antibiyotik diskleri (Becton Dickinson, ABD) kullanıldı. Sonuçlar, CLSI kriterlerine göre yorumlandı (123)

3.3.2. Mikrodilüsyon Yöntemi

Disk difüzyon yöntemi ile kinolon dirençli olarak tespit edilen 103 izolatın levofloksasin, siprofloksasin, ofloksasin ve norfloksasin için MİK değerleri mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi (123). Bu amaçla Steril U tabanlı, 96 kuyucuklu mikrodilüsyon plakları kullanıldı. Siprofloksasin (VEM İlaç, Türkiye), levofloksasin (VEM İlaç, Türkiye), ofloksasin (Sigma-Aldrich, Almanya) ve norfloksasin (Sigma-Aldrich, Almanya) toz antibiyotiklerle stok çözeltiler hazırlandı. Daha sonra bu çözeltilerden siprofloksasin için 1280 µg/ml, levofloksasin için 2560 µg/ml, ofloksasin için ve norfloksasin için 5120 µg/ml konsantrasyonda antibiyotik dilüsyonu hazırlandı. İlk olarak plakların ilk sıradaki kuyucuklarına 180 µl, diğer tüm kuyucuklara 100 µl Müeller Hinton besi yeri kondu. Sonrasında ilk kuyucuklara 20 µl antibiyotik solüsyonu eklendi. Bu çözeltilerden her antibiyotik için uygun seri dilüsyonlar (siprofloksasin için 64-0.125 µg/ml arası on dilüsyon, levofloksasin için 128-0.25 µg/ml arası on dilüsyon, ofloksasin için 128-0.25µg/ml arası on dilüsyon ve norfloksasin için 512-1µg/ml arası on dilüsyon) hazırlandı. Son iki kuyucuk pozitif ve negatif kontrol olarak belirlendi. Daha önce kanlı agara pasajlanmış olan suşlardan steril SF içerisine 0.5 McFarland bulanıklıkta bakteri süspansiyonu hazırlandı. Bu süspansiyonlardan bakteri test konsantrasyonu 5×10^5 CFU / ml olacak şekilde steril SF ile dilüsyon yapıldı. Bu dilüsyonlardan 5 µl kuyucuklara eklendi. 24 saat 37 °C de inkübasyondan sonra bakteriyel üremenin gözlenmediği en düşük dilüsyon MİK olarak belirlendi. Kontrol suşu olarak E. coli ATCC 25922 suşu kullanıldı. Sonuçlar CLSI kriterlerine göre Tablo VII' de belirtilen break-point değerlerine göre değerlendirme yapıldı (123).

Tablo VII: Levofloksasin, siprofloksasin, norfloksasin ve ofloksasin için MİK yorumlama standartları (123)

	MİK Yorumlama Kriterleri (µg/ml)		
	S (Duyarlı)	I (Az duyarlı)	R (Direnç)
Siprofloksasin	≤1	2	≥4
Levofloksasin	≤2	4	≥8
Norfloksasin	≤4	8	≥16
Ofloksasin	≤2	4	≥8

3.4. Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz Varlığının Gösterilmesi

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığı CLSI önerileri doğrultusunda fenotipik doğrulama testi yöntemiyle saptandı (123). Sefotaksim/klavulanik asit (CTX/CLA, 30/10µg), seftazidim/klavulanik asit (CAZ/CLA, 30/10µg) antibiyotik diskleri (Becton Dickinson, ABD) kullanıldı (124).

Bakteri süspansiyonları 0.5 McFarland bulanıklığına eşdeğer hazırlandı ve 4 mm kalınlığındaki Mueller Hinton agar yüzeyine yayıldı. Üçüncü kuşak sefalosporinlerden seftazidim diskinin yanına seftazidim/klavulanik asit, sefotaksim diskinin yanına sefotaksim/klavulanik asit diski yerleştirildi. Test edilen antibiyotiklerden, klavulanik asitli formları ile oluşan zon çapının, tek başına test edilene göre ≥ 5 mm artması GSBL üretimi olarak değerlendirilmiştir (124).

3.5. Direnç Genlerinin Araştırılması

3.5.1. DNA Ekstraksiyonu

Disk difüzyon yöntemiyle ve mikrodilüsyon yöntemiyle kinolonlara dirençli olan izolatların direnç gen bölgelerinin tespiti için öncelikle DNA ekstraksiyonu gerçekleştirildi. DNA ekstraksiyonu için kaynatma yöntemi kullanıldı.

1. Eppendorf tüplere 300 µl steril distile su konuldu.
2. Kanlı agar besiyerinde üreyen bakteri kolonilerinden 5-6 koloni alınarak, 300 µl steril distile su içeren eppendorf tüpün içinde homojenize edildikten sonra, 95 °C' lik ısı bloğunda 15 dakika tutuldu.
3. 14.000 g'de 3 dk. santrifüj edildi ve süpernatant kısmı alınarak eppendorf tüplere konuldu.
- 4.- 20°C'de saklandı.

3.5.2. Direnç Genlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu İle Araştırılması

Çalışmamızda aranan plazmidik direnç nedeni olan *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrS*, *aac(6')*-*Ib*, *qep A* gen bölgelerinin çoğaltılması için Tablo VIII' de belirtilen primerler kullanıldı.

Tablo VIII: *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrS*, *qepA* ve *aac(6')-1b* için polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan primer çiftleri

Polimeraz Zincir Reaksiyonu Kullanılan Hedef Genler ve Primer Dizileri			
Hedef gen	Primer	Dizi (5'-3')	Bant büyüklüğü
<i>qnrA</i>	QnrA-F	TCAGCAAGAGGATTTCTCA	626 bç
	QnrA-R	GGCAGCACTATTACTCCCA	
<i>qnrB</i>	QnrB-F	ATGACGCCATTACTGTATAA	562 bç
	QnrB-R	GATCGCAATGTGTGAAGTTT	
<i>qnrC</i>	QnrC-F	GGGTTGTACATTTATTGAATC	447 bç
	QnrC-R	TCCACTTTACGAGGTTCT	
<i>qnrS</i>	QnrS-F	ACGACATTCGTCAACTGCAA	416 bç
	QnrS-R	TAAATTGGCACCCTGTAGGC	
<i>qepA</i>	QepA-F	GCAGGTCCAGCAGCGGGTAG	199 bç
	QepA-R	CTTCCTGCCCCGAGTATCGTG	
<i>aac(6')-1b</i>	Aac(6')-1b-F	TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA	482 bç
	Aac(6')-1b-R	CTCGAATGCCTGGCGTGTTT	

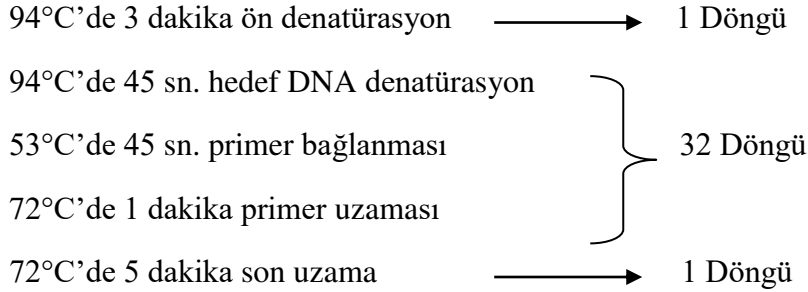
Polimeraz Zincir Reaksiyonu için kullanılan reaksiyon karışımının içeriği Tablo IX' da gösterilmiştir.

Tablo IX: *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrS*, *qepA* ve *aac(6')-1b* için polimeraz zincir reaksiyonu karışımı

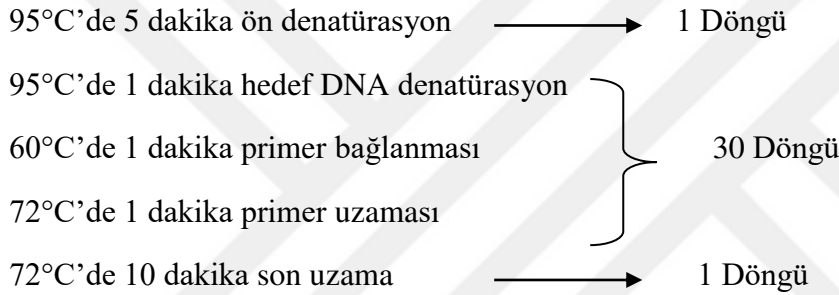
Bileşenler	Stok Konsantrasyonu	Miktar 1x(μl)
PCR tamponu	10X	2.5 μl
MgCl ₂	25mM	1.5 μl
dNTP	10mM	0.5 μl
Forward Primer	(10pmol/μl)	0.5 μl
Reverse Primer	(10pmol/μl)	0.5 μl
Tag DNA polimeraz	5 U/μl	0.25 μl
Su		18.25 μl
Kalip DNA		1 μl
Toplam		25 μl

Amplifikasyon koşulları:

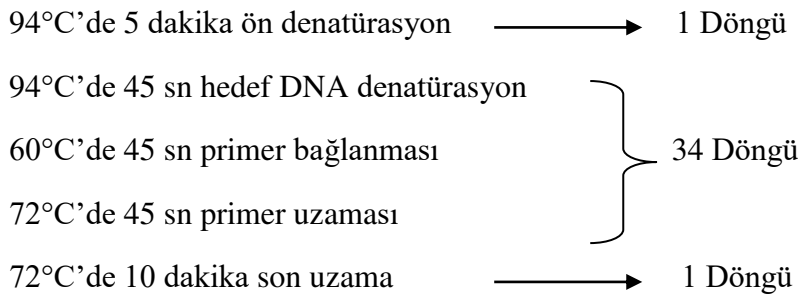
qnrA, *qnrB* ve *qnrS* için;



qnrC ve *qepA* için;



aac(6’)-Ib için;



Amplifikasyon için Eppendorf Mastercycler Gradient thermal cycler cihazı kullanıldı.

3.5.3. Amplifikasyon Ürünlerinin Görüntülenmesi

Amplifikasyon ürünleri, 0,5X TBE tamponu içindeki %2’lik agaroz jelde (Sigma, Almanya) 120 V akımla 45 dakika elektroforez sonrası Vilber Lourmat UV görüntüleme sistemi (Vilber Lourmat, Fransa) ile görüntüleme yapıldı. Belirleyici (marker) olarak 100 bp’lik DNA ladder (abm, Belçika) kullanıldı. Jelde, *qnrA* için 626 baz çifti içeren, *qnrB* için 562 baz çifti içeren, *qnrC* için 447 baz çifti içeren, *qnrS* için 416 baz çifti içeren, *aac(6’)-Ib* için 482 baz çifti içeren ve *qepA* için 199 baz çifti içeren bantlar aranmıştır.

Amplifikasyon ürünlerinin görüntülenmesinde kullanılan tampon ve çözeltiler aşağıda belirtildiği gibi hazırlandı:

TBE (Tris-borik asit-EDTA) tamponu

Stok solüsyon (10 X, p H 8.0)

121.1 gr Tris (Bioshop, Kanada)

61.83 gr Borik asit (Merck, Almanya)

5.84 gr EDTA (pH:8) (Applichem, Almanya)

Distile su ile hacim 1000 ml'ye tamamlandı. pH 8.0'e ayarlanarak +4°C'de saklandı.

Agaroz jel

2 gr agaroz (Sigma, Almanya) 100 ml 0,5X TBE tamponu içerisinde iyice eritildi. Jelin sıcaklığı 60°C'ye gelince SYBR Safe (abm, Belçika) eklendi. İyice karıştırıldıktan sonra jel kabına döküldü.

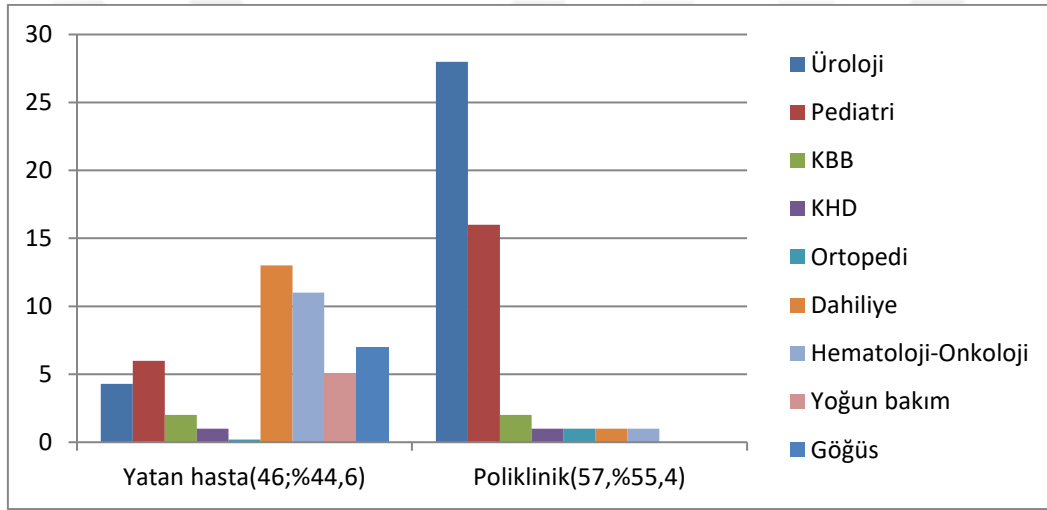
3.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 20.0 (IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows. Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.) programı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler sayı (n) ve yüzde (%) olarak ifade edildi. Kategorik yapıdaki değişkenler bakımından gruplar arası farklılıklar Ki-kare testi ile incelendi. Sonuçlar %95 güven aralığında değerlendirildi ve $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

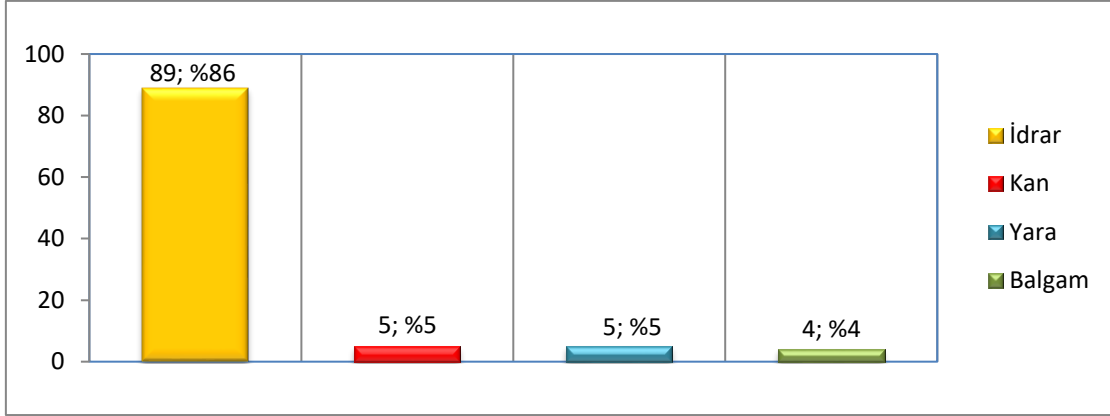
4.1.Kökenlerin Genel Özellikleri

Ocak 2012-Aralık 2013 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarı arşivinden alınan 103 *Escherichia coli* kökenlerinin izole edildikleri birimlere göre dağılımı Şekil 4'te gösterilmektedir. Yatan hastalardan izole edilen suşların oranı %44,6 olup, bunların büyük kısmı Dahiliye ve Hematoloji-Onkoloji birimlerinden oluşmaktadır. Poliklinik hastalarından izole edilen kökenlerin (%55,4) çoğunluğu ise Üroloji ve Pediatri bölümlerinden gönderilen örneklerden izole edilmiştir.



Şekil 4: Çalışmaya dahil edilen kinolon dirençli *Escherichia coli* kökenlerinin izole edildikleri birimlere göre dağılımı

Çalışmamıza dâhil edilen izolatların elde edildiği klinik örneklerin dağılımı Şekil 5' te gösterilmiştir. En çok idrar örnekleri olmak üzere; bunu takiben kan, yara ve balgam örneklerinden izole edilen kinolon dirençli *Escherichia coli* kökenleri çalışmamızda araştırılmıştır.



Şekil 5: Çalışmaya dahil edilen kinolon dirençli *Escherichia coli* kökenlerinin izole edildiği örneklerin türlerine göre dağılımı

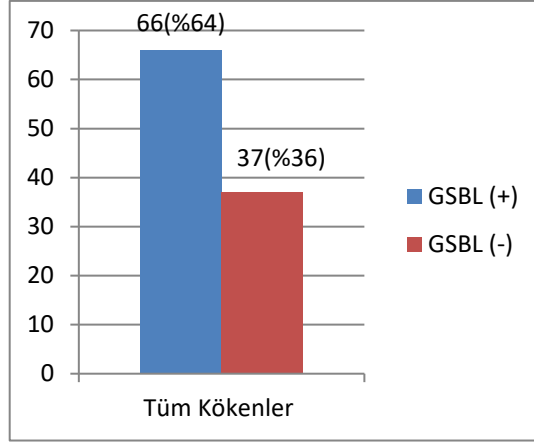
4.2. İzolatların Antibiyotik Direnç Durumu

Çalışmaya dâhil edilen tamamı kinolon dirençli olan *Escherichia coli* suşlarının diğer antibiyotiklere direnç oranları incelendiğinde; ampisilin direnci %96,2 ile en yüksek oranda bulunmuştur. Sonra sırasıyla kotrimoksazol direnci %84,4, sefazolin direnci %80,5, ampisilin-sulbaktam direnci %73,7, gentamisin direnci %72,8 oranında tespit edilmiştir. İzolatların hiçbirinde karbapenem direncine ve amikasin direncine rastlanmamıştır (Tablo X). Çalışmaya dâhil edilen 103 izolatın 66 (%64) tanesinde GSBL pozitif saptandı (Şekil 6).

Tablo X: Kinolon dirençli *Escherichia coli* suşlarının diğer antibiyotiklere direnç oranları

	Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı
Gentamisin	75 (%72,8)	2 (%1,9)	26 (%25)
Tobramisin	72 (%69,9)	9 (%8,7)	22 (%21,4)
Amikasin	0 (%0)	0 (%0)	103 (%100)
Karbapenemler*	0 (%0)	0 (%0)	103 (%100)
Piperasilin-tazobaktam	4(%3,8)	5 (%4,8)	94 (%91,4)
Ampisilin	99 (%96,2)	0 (%0)	4 (%3,8)
Ampisilin-sulbaktam	76 (%73,7)	7 (%6,7)	20 (%19,6)
Kotrimoksazol	87 (%84,4)	3 (%2,9)	13 (%12,7)
Sefazolin	83(%80,5)	3 (%2,9)	17 (%16,6)
Sefuroksim	73(%70,8)	0 (%0)	30 (%29,2)
Sefotaksim	66 (%64,0)	0 (%0)	37 (%36,0)
Seftazidim	66 (%64,0)	0 (%0)	37 (%36,0)
Sefoksitin	8 (%7,7)	3 (%2,9)	92 (%89,4)

*Karbapenemler: Ertapenem, İmipenem ve Meropenem test edilen karbapenem grubu antibiyotikler



Şekil 6: Çalışmaya dahil edilen kinolon dirençli kökenlerde GSBL pozitiflik oranı

4.3. Kinolon Direncinden Sorumlu Plazmid Genlerinin Belirlenmesi

Çalışmamızdaki kinolon dirençli *Escherichia coli* kökenlerinden 62' sinde (%60,19) araştırdığımız plazmid aracılı kinolon direnç geni tespit edilmiştir. Dirençten sorumlu plazmid genleri içinde en sık olarak *aac(6')-Ib* (%52,42) bulunmuştur. Daha sonra sırasıyla *qnrS* (%3,88), *qepA* (%1,94) ve *qnrB* (%0,97) genleri tespit edilmiştir. Bir izolatta (%1), *qnrS* ve *aac(6')-Ib* birlikte bulunmuştur. Çalışılan izolatların hiçbirinde *qnrC* ve *qnrA* direnç genleri bulunamamıştır. Qnr genleri tüm izolatlar içinde %4,85 oranında tespit edilmiş olup; en yüksek oranda (%3,88) *qnrS* geni izole edilmiştir (Tablo XI).

Tablo XI: Kinolon dirençli *Escherichia coli* suşlarında tespit edilen plazmid aracılı direnç genlerinin dağılımı

Direnç Geni	Sayı	Yüzde
<i>qnrA</i>	0	(%0)
<i>qnrB</i>	1	(%0,97)
<i>qnrC</i>	0	(%0)
<i>qnrS</i>	4	(%3,88)
<i>qepA</i>	2	(%1,94)
<i>aac(6')-Ib</i>	54	(%52,42)
<i>qnrS+aac(6')-Ib</i>	1	(%0,97)
Negatif	41	(%39,81)
Toplam	103	(%100)

Çalışmamızda *aac(6')-Ib* bulunan kökenlerde çeşitli antibiyotiklerin direnç durumları istatistiksel olarak incelenmiş ve Tablo XII' de verilmiştir. Bu kökenlerde GSBL varlığı, tobramisin direnci ve ampisilin-sulbaktam direnci bu direnç geni tespit edilmeyen kökenlere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Tablo XII: *aac(6')-Ib* izole edilen kökenlerde çeşitli antibiyotiklerin direnç durumları

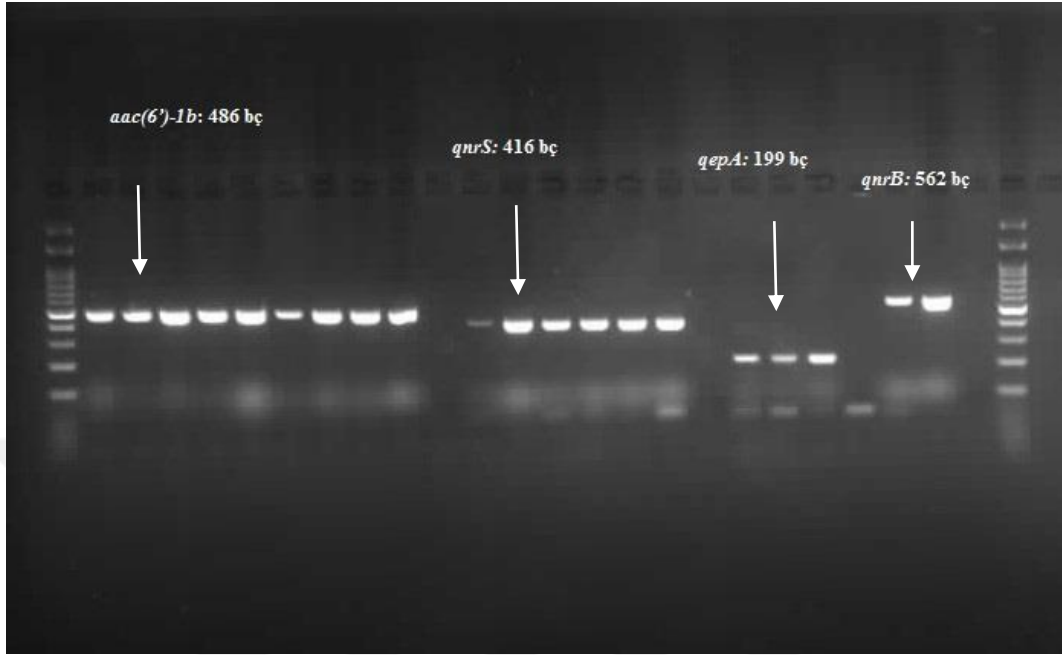
			GSBL		Gentamisin direnci		Tobramisin direnci		Ampisilin-sulbaktam		SXT		Toplam
			var	yok	var	yok	var	yok	var	yok	var	yok	
aac(6')-Ib	pozitif	n	43	12	44	11	51	4	48	7	47	8	55
		%	%78,2	%21,8	%80,0	%20,0	%92,7	%7,3	%87,3	%12,7	%85,5	%14,5	%100,0
	negatif	n	23	25	31	17	21	27	28	20	40	8	48
		%	%47,9	%52,1	%64,6	%35,4	%43,8	%56,3	%58,3	%41,7	%83,3	%16,7	%100,0
Toplam		n	66	37	75	28	72	31	76	27	87	16	103
		%	%64,1	%35,9	%72,8	%27,2	%69,9	%30,1	%73,8	%26,2	%84,5	%15,5	%100,0
			p=0,001		p=0,079		p=0,000		p=0,001		p=0,767		

Çalışmamıza dâhil edilen kinolon dirençli kökenlerin ve *aac(6')-Ib* direnç geni tespit edilen kökenlerin siprofloksasin, levofloksasin, ofloksasin ve norfloksasin için $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri ayrı ayrı hesaplandı. *aac(6')-Ib* gen pozitifliği saptanan kökenlerde levofloksasin $MİK_{50}$ değeri (16 µg/ml), tüm kökenlerin $MİK_{50}$ değerine (32µg/ml) göre düşük bulunmuştur (Tablo XIII).

Tablo XIII: Kinolon dirençli kökenlerin, *qnrS* ve *aac(6')-Ib* pozitif kökenlerin $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri

	Siprofloksasin		Levofloksasin		Ofloksasin		Norfloksasin	
	$MİK_{50}$	$MİK_{90}$	$MİK_{50}$	$MİK_{90}$	$MİK_{50}$	$MİK_{90}$	$MİK_{50}$	$MİK_{90}$
<i>qnrS</i>	>64	>64	64	128	64	128	256	>512
<i>aac(6')-Ib</i>	>64	>64	16	64	32	128	256	>512
Tüm Suşlar	>64	>64	32	64	32	128	256	>512

Çalışmamızda tespit edilen *aac(6')-Ib*, *qnrS*, *qepA* ve *qnrB* gen bölgelerinin agaroz jelde UV altındaki görüntüleri Resim 2’de gösterilmiştir.



Resim 2: Elektroforez jel görüntüsü

Çalışmaya alınan kökenlerden plazmid genleri tespit edilenlerin tüm verileri Tablo XIV’ te gösterilmiştir.

Tablo XIV: Kinolon dirençli *Escherichia coli* suşlarında plazmid genleri tespit edilen kökenlerin tüm verileri

	Gen	CIP	LEV	OFX	NOR	GSBL	ERT	IPM	MP	TZP	AM	SAM	GM	TB	AK	SXT	CZ	FOX	CTX	CAZ	CXM
1	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	32	128	Negatif	S	S	S	S	R	I	R	R	S	R	S	S	S	S	S
7	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	64	32	256	Pozitif	S	S	S	S	R	R	I	I	S	R	R	R	R	R	R
8	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	16	512	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	I	R	S	R	R	R
10	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	8	256	Pozitif	S	S	S	S	R	S	I	R	S	R	R	S	R	R	R
12	<i>aac(6')-Ib</i>	32	16	16	64	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
13	<i>aac(6')-Ib</i>	64	128	8	256	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
15	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	64	512	Negatif	S	S	S	S	R	R	S	R	S	R	R	S	S	S	R
16	<i>aac(6')-Ib</i>	64	64	128	256	Negatif	S	S	S	S	R	R	S	I	S	R	S	S	S	S	S
17	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	128	256	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
19	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	128	256	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
21	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	8	64	256	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
22	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	128	256	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
25	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	64	128	>512	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	I	R	R	R
26	<i>aac(6')-Ib</i>	64	8	32	512	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	R

27	<i>qnrB</i>	>64	128	128	>512	Pozitif	S	S	S	S	R	I	R	I	S	R	R	S	R	R	R
30	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	32	64	512	Negatif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S
31	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	128	>512	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
32	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	>128	>512	Pozitif	S	S	S	S	R	R	S	I	S	S	R	S	R	R	R
35	<i>aac(6')-Ib</i>	64	16	16	256	Pozitif	S	S	S	S	R	I	R	R	S	R	R	S	R	R	R
37	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	16	256	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
40	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	64	64	>512	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	I	R	R	R
41	<i>aac(6')-Ib</i>	16	2	4	32	Pozitif	S	S	S	S	R	I	R	R	S	R	R	S	R	R	R
42	<i>aac(6')-Ib</i>	32	4	32	64	Pozitif	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
44	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	64	64	>512	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
45	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	8	16	256	Negatif	S	S	S	S	R	R	S	I	S	I	S	S	S	S	S
58	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	32	64	256	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	R
60	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	32	256	Negatif	S	S	S	I	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S
61	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	32	256	Negatif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	I	R	S	S	S	S
62	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	32	512	Pozitif	S	S	S	I	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
63	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	32	512	Negatif	S	S	S	S	R	R	S	R	S	R	R	S	S	S	R
64	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	32	32	>512	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
65	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	64	512	Pozitif	S	S	S	S	R	R	S	R	S	R	R	S	R	R	R
66	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	32	512	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
69	<i>aac(6')-Ib</i>	64	16	32	256	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
72	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	32	64	>512	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
74	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	32	64	256	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
75	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	32	256	Negatif	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S
76	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	8	16	128	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
77	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	32	256	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
79	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	64	64	>512	Pozitif	S	S	S	S	R	S	R	R	S	R	R	S	R	R	R
82	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	64	512	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
87	<i>qepA</i>	>64	64	128	512	Negatif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S
88	<i>aac(6')-Ib</i>	64	8	32	256	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
89	<i>aac(6')-Ib</i>	64	8	32	256	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
90	<i>aac(6')-Ib</i>	64	8	32	256	Negatif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S
91	<i>qnrS</i>	>64	64	64	>512	Pozitif	S	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	S	R	R	R
94	<i>qepA</i>	>64	64	128	>512	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
96	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	32	64	>512	Negatif	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	R	S	S	S	R
97	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	64	64	>512	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
98	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	64	64	>512	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
103	<i>aac(6')-Ib</i>	64	64	32	256	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
104	<i>aac(6')-Ib</i>	64	32	>128	512	Pozitif	S	S	S	S	R	R	S	R	S	R	R	S	R	R	R
105	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	32	128	256	Pozitif	S	S	S	I	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
106	<i>aac(6')-Ib + qnrS</i>	64	64	64	256	Negatif	S	S	S	I	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S
107	<i>aac(6')-Ib</i>	64	32	64	64	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
109	<i>aac(6')-Ib</i>	64	16	32	256	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
110	<i>qnrS</i>	>64	32	64	64	Pozitif	R	S	S	I	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R
112	<i>qnrS</i>	>64	128	128	512	Negatif	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
115	<i>aac(6')-Ib</i>	>64	16	32	256	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
122	<i>aac(6')-Ib</i>	64	32	64	128	Pozitif	S	S	S	S	R	S	R	R	S	R	R	S	R	R	R
125	<i>qnrS</i>	64	128	128	256	Negatif	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
128	<i>aac(6')-Ib</i>	64	8	32	128	Pozitif	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R

CIP: Siprofloksasin, LEV: Levofloksasin, OFX: Ofloksasin, NOR: Norfloksasin, ERT: Ertapenem, IPM: İmipenem, MP: Meropenem, TZP: Piperasilin tazobaktam, AM: Ampisilin, SAM: Ampisilin- sulbaktam, GM: Gentamisin, TB: Tobramisin, AK: Amikasin, SXT: Trimetoprim-sulfametoksozol, CZ: Sefazolin, FOX: Sefoksitin, CTX: Sefotaksim, CAZ: Seftazidim, CXM: Sefuroksim



5. TARTIŞMA

Escherichia coli bakterisi; üriner sistem enfeksiyonu gibi yaygın enfeksiyonların yanı sıra hayatı tehdit eden kan dolaşımı enfeksiyonlarında da sıklıkla karşılaşılan etkindir (125). *Escherichia coli* kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarının sebep olduğu klinik sendromlar, çoğu aksi takdirde sağlıklı olan milyonlarca kadın hasta üzerinde olumsuz etkiler oluşturmaya devam etmektedir. İlk kez geçirilen üriner sistem enfeksiyonu sonrası her dört kadından birinde akut sistit için kullanılan antibiyoterapi rekürrensi önleyememektedir. Üropatojenik bakteriler arasında giderek artmakta olan antibiyotik direnci de tedavi sürecinde klinik kararları etkileyebilmekte ve bu durum da mikrobiyolojik temelli araştırmaların yapılmasını zorunlu hale getirmektedir (126). Çalışmamızda, Ocak 2012-Aralık 2013 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarı arşivinde bulunan çeşitli klinik örneklerden elde edilen 103 kinolon dirençli *Escherichia coli* klinik kökeninde plazmidik direnç genleri araştırıldı.

Escherichia coli üriner sistem enfeksiyonlarının en sık etkenidir. Çalışmaya dahil edilen kökenlerden %89'u idrar örneklerinden izole edilmiştir. Kinolon grubu antibiyotiklerin özellikle üriner sistem enfeksiyonlarında ampirik olarak sıklıkla kullanımının dirençli kökenlerin idrar örneklerinden daha sık izole edilmesine sebep olduğu düşünülmüştür.

Çalışmaya alınan kökenler en çok (%54) ayaktan hastalardan üroloji ve pediatri polikliniklerinden alınan örneklerden izole edilmiştir. Kökenlerin %46'sı ise yatan hasta örneklerinden, bunların da büyük çoğunluğu Dahiliye servislerinden gönderilen örneklerden izole edilmiştir. Lautenbach ve ark.'nın hastane kökenli *E. coli* ve *Klebsiella spp.* enfeksiyonlarında florokinolon direnci için risk faktörlerini araştırdıkları çalışmalarında, çalışmamıza benzer şekilde *E. coli* izolatlarının yoğun bakım dışı servislerde (özellikle Dahili bölüm servislerinde) daha fazla görüldüğünü saptamışlardır (127). Wisplinghoff ve ark, ABD'de yaptıkları kapsamlı bir çalışmada, hastane kökenli kan dolaşımı enfeksiyonu olan 24179 olgu incelemiş ve *E. coli* izolatlarının yoğun bakım dışı servislerde, yoğun bakım servislerinden daha fazla görüldüğünü bulmuşlardır (128). Ülkemizde yapılmış bir çalışmada Duman ve ark. kinolon dirençli *E. coli* kökenlerinin en sık ayaktan hastalardan ve idrar örneklerinden izole edildiğini bildirmişlerdir (129). Bu çalışmada kinolon dirençli kökenlerin

en sık ayaktan hastalardan alınan örneklerden izole edildiği tespit edilmiş olup toplum kökenli üriner sistem enfeksiyonlarında kinolon direncinin sık görülebileceği düşünülmüştür.

Özellikle toplumdan kazanılmış komplike olmayan üriner sistem enfeksiyonlarında tedavide öncelikli olarak tercih edilen ampisilin, amoksisilin ve trimetoprim-sulfametoksazole karşı direnç hızla artmaktadır (129). Çalışmamıza dahil edilen kinolon dirençli olan *Escherichia coli* suşlarının diğer antibiyotiklere direnç oranları incelendiğinde; ampisilin direnci %96 ile en yüksek oranda bulunmuştur. Sonra sırasıyla ko-trimaksozol direnci (%87), ampisilin-sulbaktam direnci (%76), gentamisin direnci %73, tobramisin direnci %70 oranlarında tespit edilmiştir. İzolatların hiçbirinde karbapenem direncine rastlanmamıştır. (130). Yen CW ve ark. (131), çocuklardaki *Escherichia coli* kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarında ampisilin direncini %90,2 olarak saptamıştır. Ülkemizde yapılan üç ayrı yaş grubunun değerlendirildiği bir çalışmada tüm grupların ortalama ampisilin direnci %74,2 olarak tespit edilmiştir (132). Bu çalışmada ampirik olarak sık kullanılan ampisilin ve ko-trimaksozol direnci, kinolon dirençli suşlarda yüksek oranda bulunmuştur.

Türkiye’de klinik örnekten elde edilen GSBL üreten izolatlarla yapılan moleküler çalışmalarda CTX-M-3 ve CTX-M-15 tipi ile *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS*, OXA-48 tipi ile *qnrA*, TEM ve SHV tipi ile *qnrA* ve *qnrS* genlerinin birlikteliği gösterilmiştir (2). Çalışmamızda kinolon dirençli kökenlerde GSBL oranı %64 olarak bulunmuştur. Ülkemizde yapılan idrar kültüründen izole edilen *E. coli* kökenlerinin dâhil edildiği çok merkezli bir çalışmada (133), 1996-2012 yılları arasında kinolon grubu antibiyotiklere, trimetoprim-sulfametoksazole yıllar içinde artan direnç ve GSBL direncindeki artış dikkat çekilmiştir (Tablo XV). Ülkemizde yapılan çalışmalarda GSBL üreten izolatlarda %70-80’leri aşan florokinolon direnç oranları gözlenmektedir ve florokinolon direnci GSBL üretmeyen izolatlardan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (134) (135) (136) (137). Bu çalışmada kinolon direncine GSBL direncinin sıklıkla eşlik ettiği görülmüştür.

Tablo XV: İdrar kültüründen 1996-2012 yılları arasında izole edilen *E. coli* kökenlerinin antibiyotiklere direnç oranları (133).

Yıllara Göre Direnç Oranları (%)				
Antibiyotikler*	1996-2001	2002-2007	2008-2012	p
AMP	70,20	67,44	62,06	0,385
AMC	33,40	38,73	37,48	0,497
CZ	31,43	29,82	32,15	0,997
CXM	27,93	24,21	25,56	0,793
CRO	14,71	13,59	19,22	0,103
IMP	4,16	2,30	2,85	0,470
NIT	23,90	10,49	8,55	0,179
GN	14,75	17,40	17,46	0,180
CIP	12,27	23,16	30,98	0,003
AK	7,02	6,58	5,85	0,690
FEP	2,73	14,17	18,43	0,018
SXT	26,01	51,36	52,29	0,091
TZP	11,30	11,13	17,53	0,138
PIP	43,44	56,98	39,95	0,178
GSBL	8,09	10,61	28,17	0,027

*AMP: Ampisilin, AMC: Ampisilin sulbaktam, CZ: Sefazolin, CXM: Sefuroksim, CRO: Seftriakson, IMP: İmipenem, NIT: Nitrofurantoin, GN: Gentamisin, CIP: Siprofloksasin, AK: Amikasin, FEP: Sefepim, SXT: Trimetoprim Sülfometoksazol, TZP: Piperasilin tazobaktam, PIP: Piperasilin, GSBL: Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz

Dünya genelinde plazmid aracılı kinolon direncinden sorumlu genlerden *qnrB* 'nin (21), Avrupa'daki çalışmalarda genellikle *qnrS* ve *qnrB* 'nin baskın olduğu görülmektedir (79) (138). Çalışmamızda *qnr* genleri tüm izolatlar içinde %5 oranında tespit edilmiş olup; en yüksek oranda (%4) *qnrS* geni izole edilmiştir. Tayvan'da yapılan altı yıllık bir çalışmada *qnr* gen prevalansı 2035 *E. coli* ve 1147 *K. pneumoniae* kan izolatında sırasıyla %0,6 ve %7,8 olarak rapor edilmiştir (139). Çin'de yapılan diğer bir çalışmada GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarında *qnrA* %3,6, *qnrB* %2,2 ve *qnrS* %2,5; toplamda *qnr* direnç geni pozitifliği %8,0 olarak bulunmuştur (140). İsrail'de yapılan bir çalışmada *qnr* pozitifliği %6,8 olarak bildirilmiştir (141). Türkiye'de plazmidik kinolon direnci geni, ilk kez İstanbul'da ve

2005 yılında Nazik ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Bu çalışmada GSBL pozitif 49 suşta *qnr* geni varlığı araştırılmış, bir adet *Enterobacter cloacae* ve bir adet *Citrobacter freundii* suşunda *qnrA* geni gösterilmiştir (142). Nazik ve ark. 2008’de *Enterobacteriaceae* türlerinde %1,09 oranında *qnr* genleri bulmuşlar, 2009 yılında yaptıkları başka bir çalışmada ise %1,9 olarak tespit etmişlerdir (143) (144). Yine ülkemizde HITIT projesi kapsamında yapılan bir çalışmada *qnrA* %6,3 oranında bulunmuş, *qnrB* ve *qnrS* bulunamamıştır (145). Öngen ve ark. (146) *Campylobacter* türlerinde hiçbir *qnr* genine rastlamamışken, Poirel ve ark. 138 *Escherichia coli* ve 110 *Klebsiella pneumoniae* türünde yaptıkları araştırmada yalnızca bir *Klebsiella pneumoniae* kökeninde *qnrB* tespit etmişlerdir (147). Türkiye’de yapılan çalışmalarda en sık *qnrB* geninin sonra sırasıyla *qnrS* ve *qnrA* geninin bulunduğu gözlenmektedir (148) (149). Bu çalışmada, *qnr* pozitif kökenlerin sayısının az olmasının sıklık sıralamasını etkileyebileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda *qnrA* ve *qnrC* genleri bulunamamıştır. ABD’ de 2013 yılında kan dolaşımı ve üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilmiş *E. coli* türleriyle yapılmış bir çalışmada en sık *aac(6’)-Ib* ve *qnrS* genleri izole edilmiş olup *qnrA* ve *qnrC* genleri varlığı gösterilememiştir (150). Benzer şekilde Tunus’ ta bir çocuk hastanesinde 278 örnekle yapılan bir çalışmada *qnrA* ve *qnrC* genleri bulunamamıştır (151). Yine ülkemizde Tigen ve ark. 2008-2016 yılları arasında transrektal iğne biyopsi örneklerinde 400 kinolon dirençli izolatla yaptıkları çalışmada *qnrA* ve *qnrC*’ ye rastlanmamıştır (152). Bu çalışmada *qnrC* negatifliğine *qnrC* sıklığının diğer *qnr* genlerine göre daha düşük olması yol açmış olabilir.

Bir aminoglikozid asetiltransferaz enzimi olan *aac(6’)-Ib* tobramisin ve kanamisin direncine neden olur. Çalışmamızda *aac(6’)-Ib* oranı %52,42 oranında saptanmıştır. Fransa’da Guillard ve ark. 63 *E. coli* izolatıyla yaptıkları çalışmada *aac(6’)-Ib* oranı %25,4 bulunmuştur (153). Norveç’te yapılan bir çalışmada *aac(6’)-Ib* oranı *E. coli* türlerinde %21 olarak bulunmuştur (154). ABD’ de yapılan bir çalışmada 313 siprofloksasin dirençli suşta %50,5 *aac(6’)-Ib* bulunmuştur (155). Çin’ de *E. coli* türleriyle yapılan başka bir çalışmada da %10 oranla *aac(6’)-Ib* tespit edilmiştir (156). Ülkemizde yine *E. coli* türleriyle yapılan çalışmalarda *aac(6’)-Ib* %40-60 oranlarında bulunmuştur (149) (1). Çalışmamız literatürle uyumlu olarak *Escherichia coli* üyeleri arasında *aac(6’)-Ib*’nin en baskın plazmid aracılı direnç belirleyicisi olduğunu göstermektedir.

Diğer direnç genleri ile kıyaslandığında en sık olarak *aac(6')-Ib* tespit edilmiştir. Japonya'da yapılan bir çalışmada, Okade ve ark. 126 *E. coli* kökeninde en sık olarak *aac(6')-Ib* (%8,7), daha sonra sırasıyla *qepA* (%1,6) ve *qnrA* (%0,8) direnç genlerini tespit etmişlerdir (157). Reyna-Flores ve ark. Meksika'da yaptıkları, 4735 üropatojenik *E. coli* kökeninin araştırıldığı çalışmalarında, kinolon direnç genleri arasında yine en sık olarak %92,1 oranında *aac(6')-Ib*, %7 oranında *qepA* ve %3,5 oranında *qnr* genlerini saptamışlardır (158). Ülkemizde yapılan diğer bir çalışmada, Aktepe ve ark. 112 *E. coli* kökeninin araştırıldığı çalışmada, kinolon direnç genleri arasında en sık olarak, %59,8 oranında *aac(6')-Ib* genini tespit etmişler ancak *qnrA*, *B*, *S*, *C* ve *qepA* genlerine rastlamamışlardır (1). Tüm bu adı geçen çalışmalarda en sık olarak *aac(6')-Ib* geninin tespit edilmiş olması bizim çalışmamızı destekler niteliktedir.

qnr genleri, *aadA1*, *aadA2*, *dfrA1*, *dfrA12*, *cmlA1*, *catB2*, *aac(6')-Ib-cr*, *sulI* gibi birçok farklı antimikrobiyal direnç geni ile ilişkilendirilmiştir (94). Bizim çalışmamızda da bir kökende hem *aac(6')-Ib* geni hem de *qnrS* geni birlikte bulunmuştur. Çin' de kinolon dirençli 265 *Enterobacteriaceae* kökeninin dahil edildiği bir çalışmada bir *K. pneumoniae* kökeninde *qnrS*, *qnrB* ve *aac(6')-Ib* birlikte bulunmuştur (159). Nazik ve ark. 971'i *Enterobacteriaceae* üyesi ile plazmidik direnç genlerini araştırmışlar; üç *aac(6')-Ib* pozitif suşun ikisinde *qnrS* de pozitif saptanmış (144). Bu çalışmada da aynı kökende *aac(6')-Ib* ve *qnr* genlerinin birlikte bulunabileceği gösterilmiştir.

aac(6')-Ib geninin *-cr* varyantı aminoglikozid antibiyotiklerin yanı sıra norfloksasin ve siprofloksasin gibi piperazinil nitrojeni bulunan bazı kinolonların enzimatik inaktivasyonuna ve böylelikle duyarlılığın azalmasına neden olan aminoglikozit asetiltransferazı kodlar. Bu enzim piperazinil nitrojeni olmayan kinolonlara (levofloksasin gibi) etkisizdir (101). Buna paralel olarak *aac(6')-Ib* pozitif kökenlerde levofloksasin MİK₅₀ değeri (16 µg/ml), diğer kinolon dirençli tüm kökenlerin levofloksasin MİK₅₀ değerinden (32 µg/ml) görece düşük bulunmuştur. İncelenen farklı araştırmalar; bulunan *aac(6')-Ib* 'lerin %60-80' inin *aac(6')-Ib-cr* varyantı olarak bulmuşlardır (101) (140). Çalışmamızda sadece *aac(6')-Ib* genine bakılmıştır. Tüm kökenler içinde *aac(6')-Ib* gen pozitifliği %52,42 olarak yüksek bulunmuştur. Çalışmamıza dahil edilen suşların kinolon dirençli olması *aac(6')-Ib* pozitifliklerinin daha çok *-cr* varyantı

olabileceğini düşündürse de sekanslama veya restriksiyon analiz yöntemlerinden biriyle araştırılarak desteklenmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada *aac(6')-Ib* pozitifliği bulunan kökenlerde GSBL varlığı araştırılmış anlamlı olarak yüksek (%78,2) bulunmuştur. Poirel ve ark. Türkiye’de farklı hastanelerde kandan izole edilen GSBL oluşturan *E. coli* suşlarında plazmid aracılı direnç genlerinin sıklığını araştırmışlar ve *aac(6')-Ib-cr* geninin, GSBL oluşturan 50 izolatın 39’unda (%78) bulunduğunu göstermişlerdir (147). Yine bu gen bölgesinin OXA-48, CTX-M-15, TEM-1 gibi beta laktamazlarla birlikteliği çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir (160) (161). Bizim çalışmamızda da *aac(6')-Ib* tespit ettiğimiz kökenlerde GSBL pozitifliği ve ampisilin-sulbaktam direncindeki yüksek oranın, bunun sonucu olabileceği düşünülmüştür

Bir aminoglikozid asetiltransferaz enzimi olan *aac(6')-Ib* tobramisin ve kanamisin direncine neden olur. Çalışmamızda *aac(6')-Ib* pozitifliği bulunan kökenlerle diğer tüm kökenlere göre tobramisin ve gentamisin direncinde artış tespit edilmiştir. Bu kökenlerde gösterdiğimiz tobramisin direncinde görülen anlamlı artış beklenen bir bulgu iken, istatistiksel olarak anlamlı gösterilemese de gentamisin direnç oranında da görece artış saptanması benzer çalışmaları desteklemektedir (101) (162) (163).

Daha yakın zamanda keşfedilen *qepA* geni ilk kez Japonya’da gösterilmiş olup, yine Japonya’dan yapılan bir bildiride *qepA* gen prevalansı %0,3 olarak bulunmuştur (110) (164). . Çalışmamızda da kinolon dirençli 103 *E. coli* izolatlarında sadece iki izolatta *qepA* geni (%2) bulunmuştur. Fransa’da yapılan kapsamlı bir süveyans çalışmasında 121 GSBL pozitif *Enterobacteriaceae* suşu arasında bir tek *E. coli* izolatı (%0,8) *qepA2* olarak adlandırılan bir varyant yönünden pozitif bulunmuştur (106). GSBL pozitif suşlarda Mısır’da yapılan çalışmada da *qepA* pozitifliği %6,6 oranında yüksek bulunmuştur (162). Londra’dan %3,6, Güney Kore’den %0,2 oranında *qepA* pozitifliği bildirilmiştir (110) (165). Ülkemizde ilk kez 2010 yılında Gülay ve ark. aynı zamanda *qnrB2* ve *aac(6')-Ib-cr* genlerini de taşıyan 2 (%2,3) *E. coli* izolatında *qepA* ’yı bildirmişlerdir (166). Nazik ve ark. 61 GSBL pozitif üriner *E. coli* izolatını incelemişler ve *qepA* gen prevelansını %3,3 olarak bildirmişlerdir (167). Hoşgör ve ark.’ın kinolon dirençli 106 *E. coli* izolatında yaptıkları bir çalışmada *qepA* gen oranı %0,9 olarak tespit edilmiştir (149) Bugüne kadar yapılmış çalışmalar incelendiğinde *qepA* prevalansının klinik izolatlarda %0,2-6,6 gibi bir aralıkta değiştiği görülmektedir (106)

(110) (164) (165). Daha doğru prevalans oranları için geniş çaplı sürveyans çalışmalarına ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda, 103 kinolon dirençli *E.coli* kökeninden 41'inde (%39,8) araştırılan direnç genlerinden herhangi biri tespit edilememiştir. Sana ve ark. 2014 yılında yayınladıkları, 300 üropatojenik *E.coli* kökenini araştırdıkları bir çalışmada (168), direnç mekanizmasından sorumlu olarak en sık *gyrA* ve *parC* genlerini tespit etmişlerdir. Ülkemizde yapılan başka bir çalışmada (169), Buruk ve ark. 127 *E. coli* kökeninde, %38,9 oranında *aac(6')-Ib-cr*, %4,2 oranında *qnrB* ve tespit edilen *qnrS* ve *qepA* genleri ile eşit sıklıkta olmak üzere, %1,4 oranında da *oqxAB* efluks pompa inhibitörü saptamışlardır. Yukarıda çalışmalarda bahsedilen, kinolon direncinden sorumlu olabilecek *gyrA* ve *parC* kromozomal genleri, *oqxAB* efluks pompa inhibitörü ve *qnr D* plazmid varlığının araştırılması durumunda negatiflik suşlarda bu direnç mekanizmalarının olabileceğini tahmin etmekteyiz.

Plazmid aracılı direnç genleri kinolon direncinin ortaya çıkması sürecinde öncü veya yardımcı rollere sahiptirler, ancak varlıkları ile klinik kinolon direnci arasındaki bağlantı henüz tam olarak kurulmuş değildir (170). Ancak yüksek prevalansları problem teşkil edebilir. Direnç genlerinin taşıyan plazmidlerin hızla yayılmasıyla direnç oranlarının daha da artması; yakın zamanda kinolonların klinikte kullanım alanlarının daha da sınırlandırılmasına yol açabileceği düşünülmüştür.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Adnan Menderes Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda 2012 Ocak ve 2013 Aralık tarihleri arasında kinolon direnci tespit edilen 103 *Escherichia coli* suşunda plazmid aracılı *qnr*, *aac(6')-Ib* ve *qepA* direnç genlerinin araştırıldığı çalışmamızda;

1. Kinolon dirençli suşlarda MİK oranları yüksek bulunmuş olup, bu suşlarda GSBL direnci kinolon direncine büyük oranda eşlik etmektedir. Kinolon grubu antibiyotiklerin ampirik tedavide sıkça kullanılması bu yüksek direnç oranlarına yol açmış olabileceğinden, mikrobiyolojik kültür ve antibiyogram analizlerinin önemi ve akılcı antibiyotik kullanımı sıkça gündeme getirilmelidir.
2. En fazla tespit edilen plazmid aracılı direnç geni ülkemizde ve dünyada yapılan çalışmalarla korele olarak, *aac(6')-Ib* genidir. Bu gen pozitif tespit edilen suşlardaki anlamlı GSBL pozitifliği, tobramisin direnci ve ampisilin sulbaktam direnci, bu direnç geninin diğer direnç paternlerine sıklıkla eşlik ettiğini desteklemiştir. Araştırılan suşlarda beta laktamaz direncine sebep olan genlerin de araştırılması daha ileriki çalışmalarda bu konuya ışık tutabilir.
3. *qnr* genlerinin pozitiflik oranı düşük olup daha fazla sayıdaki kökenle yapılacak araştırmalarda daha doğru prevalans sonuçları elde edilebilir.
4. Kinolon dirençli bazı suşlardaki araştırılan hiçbir plazmid aracılı direnç geni saptanmamış olup daha fazla direnç geninin araştırıldığı kapsamlı çalışmalarla tüm direnç mekanizmalarının birlikte incelenmesi gerekmektedir.
5. Kinolon grubu antibiyotiklere karşı yüksek MİK değerleri önümüzdeki yıllarda mikroorganizmalar ve insanlar arasındaki mücadelede önemli bir silah olan kinolon grubu antibiyotiklerin de etkisiz hale gelebileceğini göstermektedir.

ÖZET

Kinolon Dirençli *Escherichia coli* Klinik İzolatlarında Plazmidik Direnç Mekanizmalarının Araştırılması

Kinolonlar, *Escherichia coli* gibi Gram negatif mikroorganizmaların oluşturduğu enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak kinolon direnci bu grup antibiyotiklerin ampirik tedavide sıkça kullanılması nedeniyle hızlı bir artış göstermektedir. Bu çalışmanın amacı 2012 Ocak ve 2013 Aralık tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda kinolon direnci tespit edilen *Escherichia coli* suşlarında plazmid aracılı *qnr*, *aac(6')-Ib* ve *qepA* direnç genlerinin araştırılmasıdır.

Çeşitli klinik örneklerden elde edilen kökenlerin disk difüzyon yöntemiyle ampisilin, ampisilin/sulbaktam, sefazolin, seftazidim, sefotaksim, sefoksitin, sefuroksim, gentamisin, tobramisin, amikasin, siprofloksasin, levofloksasin, norfloksasin, ofloksasin, nalidiksik asit, piperasilin-tazobaktam, ertapenem, imipenem, meropenem, trimetoprim-sülfometoksazol antibiyotik duyarlılıklarına bakıldı. Bu kökenlerin siprofloksasin, levofloksasin, ofloksasin ve norfloksasin MİK değerleri mikrodilüsyon yöntemi ile tespit edildi. Daha sonra *qnrA*, *B*, *S*, *C*, *aac(6')-Ib* ve *qepA* direnç genleri PZR ile araştırıldı.

Kinolon dirençli *Escherichia coli* kökenlerinden 62' sinde (%60,19) plazmid aracılı kinolon direnç geni tespit edilmiştir. Dirençten sorumlu plazmid genleri içinde en sık *aac(6')-Ib* (%52,42) bulunmuştur. Daha sonra sırasıyla *qnrS* (%3,88), *qepA* (%1,94) ve *qnr B* (%0,97) tespit edilmiştir. Bir izolatta (%1), *qnrS* ve *aac(6')-Ib* birlikte bulunmuştur. İzolatların hiçbirinde *qnrC* ve *qnrA* direnç genleri bulunamamıştır.

En fazla tespit edilen plazmid aracılı direnç geni yapılan çalışmalarla korele olarak, *aac(6')-Ib* genidir. Bu gen pozitif tespit edilen suşlardaki anlamlı GSBL pozitifliği, tobramisin ve ampisilin sulbaktam direnci, bu direnç geninin diğer direnç paternlerine sıklıkla eşlik ettiğini desteklemiştir.

ABSTRACT

Investigation of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Mechanisms in *Escherichia coli* Clinical Isolates

Quinolones are commonly used for treating infections caused by Gram-negative microorganisms such as *Escherichia coli*. However, quinolone resistance has spiked up due to this very common empirical utilization of these antibiotics. The aim of this study is to investigate the presence of plasmid mediated quinolone resistance genes *qnr*, *aac(6')-Ib* ve *qepA* in 103 *Escherichia coli* isolates which were revived in Bacteriology Laboratory of Medical Microbiology Division of Adnan Menderes University Medicine Faculty Teaching Hospital between January 2012 and December 2013.

Izolates from various clinical specimens have been examined for ampicillin, ampicillin/sulbactam, cefazolin, ceftazidime, cefotaxime, cefoxitin, cefuroxime, gentamicin, tobramycin, amikacin, ciprofloxacin, levofloxacin, norfloxacin, ofloxacin, nalidixic acid, piperacillin-tazobactam, ertapenem, imipenem, meropenem, trimethoprim-sulphamethoxazole antibiotic susceptibilities via disc diffusion method. Ciprofloxacin, levofloxacin, ofloxacin ve norfloxacin MIC values of these isolates have been established via microdilution method. Then, *qnrA*, *B*, *S*, *C*, *aac(6')-Ib* and *qepA* resistance genes have investigated by PCR.

Plasmid-mediated quinolone resistance genes have been found in 62 (%60,19) of quinolone resistant *Escherichia coli* isolates. Most common found plasmid-mediated resistance gene was *aac(6')-Ib* (%52,42). *qnrS* (%3,88), *qepA* (%1,94) and *qnr B* (%0,97) have been established respectively. *qnrS* and *aac(6')-Ib* have been found in one isolate at the same time (%1). Neither *qnrC* nor *qnrA* resistance genes have not been found in our isolates.

In correlation with the literature, the most common plasmid-mediated resistance gene was *aac(6')-Ib* in our study. Since a significant ESBL positivity and tobramycin and ampicillin resistance have been revealed in *aac(6')-Ib* positive isolates, it has been substantiated that other resistance patterns frequently accompany this resistance gene.

KAYNAKLAR

1. Aktepe OC, Aşık G, Çetinkol Y, Biçmen M, Gülay Z. Escherichia coli suşlarında plazmide bağlı kinolon direncinin araştırılması. 2012; Cilt 46: 9-16.
2. Nazik H, Öngen B. Türkiye’de plazmid aracılı kinolon direnci. ANKEM Derg 2010; Cilt 24: 46-54.
3. . Ruiz J, Pons MJ, Gomes C. Transferable mechanisms of quinolone resistance. International Journal of Antimicrobial Agents 2012; Vol 40: 196–203.
4. SD, Manning. What is E.coli? Deadly Diseases and Epidemics Escherichia Coli Infections. New York : Chelsea House Publishers, 2010; 16-26.
5. Unat EK. Escherichia coli. Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi. İstanbul : Dergah Tıp Yayınları, 1986.
6. Chen HD, Frankel G. Enteropathogenic Escherichia coli: unravelling pathogenesis. FEMS Microbiology Rev 2005; Vol 29: 83-98.
7. Konowalchuk J, Speirs JJ, Stavric S. Vero response to a cytotoxin of Escherichia coli. Infect Immun 1977; Vol 18: 775-779.
8. Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, Hebert RJ, Olcott ES, Johnson LM, Hargrett NT, Blake PA, Cohen ML. Hemorrhagic colitis associated with a rare Escherichia coli serotype. N Eng J Med 1983; Vol 308: 681-685.
9. Fındık D. Escherichia Türleri. G Söyletir, M Doğanay AW Topçu (ed.ler). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul : Nobel Tıp Kitabevleri, 2008.
10. Erdem B. Enterobacteriaceae. Ustaçelebi Ş (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara : Güneş Kitabevi Ltd Şti, 1999.
11. Mamıkoğlu L, İnan D. İdrar Yolu Enfeksiyonları. G Söyletir, M Doğanay AW Topçu (ed.ler) Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri, 2008.
12. Bannister BA, Begg NT, Gillespie SH. Gastrointestinal Infections and Food Poisoning. Infectious Diseases. London: Blackwell Science Ltd, 1996. 150-182.
13. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic Escherichia coli. Nat Rev Microbiol 2004; Vol 2: 123-40.
14. Servin AL. Pathogenesis of Afa/Dr diffusely adhering Escherichia coli. Clin Microbiol Rev 2005; Vol 18(2): 264.

15. Kuehn MJ, Heuser J, Normark S, Hultgren SJ. P pili in uropathogenic *E. coli* are composite fibres with distinct fibrillar adhesive tips. *Nature* 1992; Vol 356(6366): 252.
16. Lane MC, Mobley HL. Role of P-fimbrial-mediated adherence in pyelonephritis and persistence of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) in the mammalian kidney. *Kidney Int* 2007; Vol 72(1): 19.
17. Stapleton A, Nudelman E, Clausen H, Hakomori S, Stamm WE. Binding of uropathogenic *Escherichia coli* R45 to glycolipids extracted from vaginal epithelial cells is dependent on histo-blood group secretor status. *J Clin Invest* 1992; Vol 90(3): 965.
18. Goluszko P, Moseley SL, Truong LD, Kaul A, Williford JR, Selvarangan R, Nowicki S, Nowicki B. Development of experimental model of chronic pyelonephritis with *Escherichia coli* O75:K5:H-bearing Dr fimbriae: mutation in the dra region prevented tubulointerstitial nephritis. *J Clin Invest* 1997; Vol 99(7): 1662.
19. Valle J, Mabbett AN, Ulett GC, Toledo-Arana A, Wecker K, Totsika M, Schembri MA, Ghigo JM, Beloin C. UpaG, a new member of the trimeric autotransporter family of adhesins in uropathogenic *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 2008; Vol 190(12): 4147.
20. Le Bouguenec C, Archambaud M, Labigne A. Rapid and specific detection of the pap, afa, and sfa adhesin-encoding operons in uropathogenic *Escherichia coli* strains by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992; Vol 30(5): 1189.
21. Le Bouguénec C, Lalioui L, du Merle L, Jouve M, Courcoux P, Bouzari S, Selvarangan R, Nowicki BJ, Germani Y, Andremont A, Gounon P, Garcia MI. Characterization of AfaE adhesins produced by extraintestinal and intestinal human *Escherichia coli* isolates: PCR assays for detection of Afa adhesins that do or do not recognize Dr blood group antigens. *J Clin Microbiol* 2001; Vol 39(5): 1738.
22. Langermann S, Palaszynski S, Barnhart M, Auguste G, Pinkner JS, Burlein J, Barren P, Koenig S, Leath S, Jones CH, Hultgren SJ. Prevention of mucosal *Escherichia coli* infection by FimH-adhesin-based systemic vaccination. *Science* 1997; Vol 276(5312): 607.
23. Sivick KE, Mobley HL. Waging war against uropathogenic *Escherichia coli*: winning back the urinary tract. *Infect Immun* 2010; Vol 78(2): 568-585.
24. Anderson GG, Dodson KW, Hooton TM, Hultgren SJ. Intracellular bacterial communities of uropathogenic *Escherichia coli* in urinary tract pathogenesis. *Trends Microbiol* 2004; Vol 12: 9-12.
25. Hanson LA. Prognostic indicators in childhood urinary infections. *Kidney Int* 1982; Vol 21(4): 659.

26. Floyd RV, Upton M, Hultgren SJ, Wray S, Burdyga TV, Winstanley C. Escherichia coli-mediated impairment of ureteric contractility is uropathogenic E. coli specific. *J Infect Dis* 2012; Vol 206(10): 1589.
27. Nicolle LE. Terra incognita: the ureter in urinary tract infection. *J Infect Dis* 2012; Vol: Nov 206(10): 1494-1496.
28. Emody L, Kerenyi M, Nagy G. Virulence factors of uropathogenic Escherichia coli. *Inter J Antimicrob Agents* 2003; Vol 22: 29-33.
29. Kucheria R, Dasgupta P, Sacks SH, Khan MS, Sheerin NS. Urinary tract infections: new insights into a common problem. *Postgrad Med J* 2005; Vol 81: 83-86.
30. Rama G, Chhina DK, Chhina RS, Sharma S. Urinary tract infections microbial virulence determinants and reactive oxygen species. *CIMID* 2005; Vol 28: 339-349.
31. Yamamoto S. Molecular epidemiology of uropathogenic Escherichia coli. *J Infect Chemother* 2007; Vol 13: 68-73.
32. Vagrli MA. Siderophore production by uropathogenic Escherichia coli. *Indian J Path and Microb* 2009; Vol 52: 10-12.
33. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Enterobacteriaceae. *Bailey&Scott's Diagnostic Microbiology*. Eleventh Edition, 2002; 365-377.
34. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Enterobacteriaceae. Murray PR (ed). *Tibbi Mikrobiyoloji (Medical Microbiology)*. Ankara: Atlas Kitapçılık, 2010; 301-315.
35. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, Procop GW, Woods GL. Enterobacteriaceae. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* 6th ed. Philadelphia-New York : Lippincott, 2006.
36. Peach BC, Garvan GJ, Garvan CS, Cimiotti JP. Risk Factors for Urosepsis in Older Adults: A Systematic Review. *Gerontology&Geriatric Medicine* 2016; Vol. 2: 1-7.
37. Wagenlehner FME, Weidner W, Naber KG. Optimal management of urosepsis from the urological perspective. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2007; Vol. 30: 390-397.
38. Smith PB, Cotten CM, Garges HP, Tiffany KF, Lenfestey RW, Moody MA, Li JS, Benjamin DK Jr. A Comparison of Neonatal Gram-Negative Rod and Gram-Positive Cocci Meningitis. *J Perinatol* 2006; Vol 26(2): 111.
39. Kim KS. Current concepts on the pathogenesis of Escherichia coli meningitis: implications for therapy and prevention. *Curr Opin Infect Dis* 2012; Vol 25(3): 273-278.
40. Ardissino G, Salardi S, Colombo E, Testa S, Borsa-Ghiringelli N, Paglialonga F, Paracchini V, Tel F, Possenti I, Belingheri M, Civitillo CF, Sardini S, Ceruti R, Baldioli C,

Tommasi P, Parola L, Russo F, Tedeschi S. Italian, Epidemiology of Haemolytic Uremic Syndrome in Children. Data From the North Italian HUS Network. *Eur J Pediatr* 2016; Vol 175(4): 465-473.

41. Nataro JP, Bopp CA, Fields PI, Kaper JB, Strockbine NA. *Escherichia*, *Shigella* ve *Salmonella* (çev. Levent B). A Kubar, ŞT Yıldiran, M Tanyüksel, A Başustaoğlu(ed.ler). *Klinik Mikrobiyoloji (Manual of clinical microbiology) Dokuzuncu Baskı*. Ankara : Atlas Kitapçılık Tic. Ltd. Şti, 2009: 670-687.

42. Bhan MK, Khoshoo V, Sommerfelt H, Raj P, Sazawal S, Srivastava R. Enteroggregative *Escherichia coli* and *Salmonella* Associated With Nondysenteric Persistent Diarrhea. *Pediatr Infect Dis J* 1989; Vol 8(8): 499.

43. Wanke CA, Schorling JB, Barrett LJ, Desouza MA, Guerrant RL. Potential Role of Adherence Traits of *Escherichia coli* in Persistent Diarrhea in an Urban Brazilian Slum . *Pediatr Infect Dis J* 1991; Vol 10(10): 746.

44. McGannon CM, Fuller CA, Weiss AA. Different classes of antibiotics differentially influence shiga toxin production. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; Vol 54(9): 3790-3798.

45. Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis* 2008; Vol 8(3): 159-166.

46. Melzer M, Petersen I. Mortality following bacteraemic infection caused by extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *E. coli* compared to non-ESBL producing *E. coli*. *J Infect* 2007; Vol 55(3): 254-259.

47. Batard E, Ollivier F, Boutoille D, Hardouin JB, Montassier E, Caillon J et al. Relationship Between Hospital Antibiotic Use and Quinolone Resistance in *Escherichia coli*. *Int J Infect Dis* 2013; Vol 17(4): 254-258.

48. Hancock REW. Mechanisms of action of newer antibiotics for Gram-positive pathogens. *The Lancet Infectious Diseases* 2005; Vol 5: 209-218.

49. Tenover FC. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *American Journal of Infection Control* 2006; Vol 34: 3-10.

50. McDermott PF, Walker RD, White DG. Antimicrobials: modes of action and mechanisms of resistance. *International Journal of Toxicology* 2003; Vol 22: 135-143.

51. Harbottle H, Thakur S, Zhao S, White DG. Genetics of Antimicrobial Resistance. *Animal Biotechnology* 2006; Vol 17: 111-124.

52. Normark BH, Normark S Evolution and spread of antibiotic resistance. *Journal of Internal Medicine* 2002; Vol 252(2): 91-106.

53. Baron S, Peake RC, James DA, Susman M, Kennedy CA, Singleton MJD, Schuenke S. Medical Microbiology, 4th edition. The University of Texas, 1996.
54. Snyder L, Champness W. Molecular Biology Manipulations with DNA. Molecular Genetics of Bacteria, 3rd edition. 2007.
55. Watanabe T, Fukasawa T. Episome-Mediated Transfer of Drug Resistance in Enterobacteriaceae. Transfer of Resistance Factors by Conjugation. Journal of Bacteriology 1961; Vol 81: 669–678.
56. Bennett PM. Integrons and gene cassettes: a genetic construction kit for bacteria. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 1999; Vol 43: 1-4.
57. Fluit AC, Schmitz FJ. Resistance integrons and super integrons. Clinical Microbiology and Infection 2004; Vol 10: 272–288.
58. Emamia Shafieeb A, Foroumadib A. Quinolones: Recent Structural and Clinical Developments. Iranian Journal of Pharmaceutical Research 2005; Vol 3: 123-136.
59. Hooper DC, Strahilevitz J. Quinolones. Bennett JE (ed). Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, Updated Edition. Saunders, 2015: 34, 419-439.e8.
60. Topçu AW, Koç MM. Kinolonlar. Söyletir G, Doğanay M Topçu AW (ed.ler). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul, Nobel Kitabevi, 2008: 341-353.
61. Bambeke FV, Michot JM, Eldere JV, Tulkens PM. Quinolones in 2005: m update. Clin Microbiol Infect 2005; Vol 11: 256.
62. Andriole VT. The Quinolones: Past, Present, and Future. Clinical Infectious Diseases 2005; Vol 41: 113-119.
63. Gellert M, Mizuuchi K, O'Dea MH, Nash HA. DNA gyrase: An enzyme that introduces superhelical turns into DNA. Proc Natl Acad Sci 1976; 73.
64. Nordmann P, Poirel L. Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in Enterobacteriaceae. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2005; Vol 56: 463–469.
65. Hooper DC. Quinolones. Dolin R (ed). Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. Philadelphia : Elsevier Churchill Livingst, 2005: 451.
66. Wang H, Dzink-Fox JL, Chen M, Levy SB. Genetic Characterization of Highly Fluoroquinolone-Resistant Clinical Escherichia coli Strains From China: Role of acrR mutations. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2001; Vol 45: 1515–1521.
67. NORM/NORM-VET 2006 Report. Usage of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Norway. 2006. ISSN: 1502-2307.

68. Ruiz J. Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2003; Vol 51: 1109-1117.
69. Aldred KJ, Kerns RJ, Osheroff N. Mechanism of quinolone action and resistance. *Biochemistry* 2014; Vol 53(10): 1565-1574.
70. Gülay Z. Kinolon Direnci. *Flora Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi* 2002; Vol 7(4): 225-232.
71. Barnard FY, Maxwell A. Interaction between DNA gyrase and quinolones: effects of alanine mutations at GyrA subunit residues Ser83 and Asp87. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; Vol 45: 1994-2000.
72. Hooper DC, Strahilevitz J. Quinolones. In *Principles and Practice of Infectious Diseases*. GL Mandell, JE Bennett, R Dolin (Eds). 7th ed. Philadelphia : Elsevier Chirchill Livingstone, 2010: 487-510.
73. Hopkins KL, Davies RH, Threlfall EJ. Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: recent developments. *Int J Antimicrob Agents* 2005; Vol 25: 358-373.
74. Hooper DC. Mechanisms of action and resistance of older and newer quinolones. *Clin Infect Dis* 2001; Vol 31(2): 24-28.
75. Kaatz GW, Moudgal VV, Seo SM. Identification and characterization of a novel efflux-related multidrug resistance phenotype in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2002; Vol 50: 833-838.
76. Deguchi T, Fukuoka A, Yasuda M, et al. Alteration in the GyrA subunit of DNA gyrase and the ParC subunit of topoisomerase IV in quinolone resistant clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; Vol 41: 699–701.
77. Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 1998; Vol 351: 797–799.
78. Martinez-Martinez L, Pascual A, Garcia I, Tran J, Jacoby GA. Interaction of plasmid and host quinolone resistance. *J Antimicrob Chemother* 2003; Vol 51: 1037–1039.
79. Tran JH, Jacoby GA, Hooper DC. Interaction of the plasmid-encoded quinolone resistance protein Qnr with *Escherichia coli* DNA gyrase. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; Vol 49: 118-125.
80. Wang M, Tran JH, Jacoby GA, Zhang Y, Wang F, Hooper DC. Plasmid mediated quinolone resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* from Shanghai, China. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; Vol 47: 2242–2248.

81. Rodriguez-Martinez JM, Pascual A, Garcia I, Martinez-Martinez L. Detection of the plasmid-mediated quinolone resistance determinant qnr among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* producing AmpC type β -lactamase. *J Antimicrob Chemother* 2003; Vol 52: 703–706.
82. Robicsek A, Sahm DF, Jacoby G, Hooper DC. Broader distribution of plasmid-mediated quinolone resistance in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; Vol 49: 3001–3003.
83. Wiegand I, Khalaf N, Al-Agamy MHM, Wiedemann B. First detection of the transferable quinolone resistance determinant in clinical *Providencia stuartii* strains transferable quinolone resistance determinant in clinical *Providencia stuartii* strains in Egypt. *Clin Microbiol Infect* 2004; Vol 10s3: 64.
84. Kim SH, Kwak Y, Lee M, Kim N, Jeong J, Kim Y. Plasmid-mediated quinolone resistance in clinical isolates of *E. coli* from Korea. Program and abstracts of the 44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington, DC : American Society for Microbiology, 2004; 119.
85. Paauw A, Fluit AC, Verhoef J, Leverstein-VanHall MA. A major outbreak with plasmid-mediated, qnr encoded, quinolone resistance [abstract C2-1898]. Washington, DC : American Society for Microbiology, 2004; Program and abstracts of the 44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 125.
86. Paterson DL, Mulazimoglu L, Casellas JM, et al. Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum β -lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteremia. *Clin Infect Dis* 2000; Vol 30: 473–478.
87. Martinez-Martinez L, Eliecer Cano M, Manuel Rodriguez-Martinez J, Calvo J, Pascual A. Plasmid-mediated quinolone resistance. *Expert Rev Anti Infect* 2008; Vol 6(5): 685 -711.
88. Strahilevitz J, Jacoby GA, Hooper DC, Robicsek A. Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clin Microbiol Rev* 2009; Vol 22(4): 664-689.
89. Lahey Clinic. Lahey Clinic. qnr Numbering and Sequence. [Çevrimiçi] 20 Eylül 2016. [Alıntı Tarihi: 29 Eylül 2016.] www.lahey.org/qnrStudies.
90. Arsène S, Leclercq R. Role of a qnr-like gene in the intrinsic resistance of *Enterococcus faecalis* to fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; Vol 51: 3254-3258.
91. Poirel L, Rodriguez-Martinez J-M, Mammeri H, Liard A, Nordmann P. Origin of plasmid-mediated quinolone resistance determinant QnrA. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; Vol 49: 3253-3255.
92. Saga T, Kaku K, Onodera Y, Yamachika S, Sato K, Takase H. *Vibrio parahaemolyticus* chromosomal qnr homologue VPA0095: demonstration by transformation with a mutated

gene of its potential to reduce quinolone susceptibility in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; Vol 49: 2144-2145.

93. Jacoby GA, Hooper DC. Phylogenetic analysis of chromosomally determined qnr and related proteins, *Antimicrob Agents Chemother* 2013; Vol 57: 1930-1934.

94. Kim HB, Wang M, Gavin M, Jacoby GA, Hooper DC. Cold shock induces qnrA expression in *Shewanella algae*. *Antimicrob Agent Chemother* 2011; Vol 55: 414-416.

95. Saga T, Sabtcheva S, Mitsutake K, Ishii Y, Tateda K, Yamaguchi K, Kaku M. Characterization of qnrB-like genes in *Citrobacter* species of the American Type Culture Collection. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; Vol 57: 2863-2866.

96. Vetting MW, Hedge SS, Fajardo JE, Fiser A, Roderick SL, Takiff HE, Blanchard JS. Pentapeptide-repeat proteins. *Biochemistry* 2006; Vol 45: 1-10.

97. Tran JH, Jacoby GA. Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; Vol 99: 5638-5642.

98. Jacoby G, Cattoir V, Hooper D et al. qnr gene nomenclature. *Antimicrob Agents and Chemother* 2006; Vol 52(7): 2297-2299.

99. Wang M, Guo Q, Xu X, Wang X, Ye X, Wu S, Hooper DC, Wang M. New plasmid-mediated quinolone resistance gene, qnrC, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; Vol 53: 1892-1897.

100. Cavaco LM, Hasman H, Xia S, Aarestrup FM. qnrD, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar Kentucky and *Bovismorbificans* strains of human origin. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; Vol 53: 603-608.

101. Hata M, Suzuki M, Matsumoto M et al. Cloning of a novel gene for quinolone resistance from a transferable plasmid in *Shigella flexneri* 2b. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; Vol 49(2): 801-803.

102. Jacoby GA, Corcoran MA, Hooper DC. Protective effect of Qnr on agents other than quinolones that target DNA gyrase. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; Vol 59: 6689-6695.

103. Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infectious Diseases* 2006; Vol 6: 629–640.

104. Fonseca EL, Dos Santos Freitas F, Vieira VV, Vicente AC. New qnr gene cassettes associated with superintegron repeats in *Vibrio cholerae* O1. *Emerg Infect Dis* 2008; Vol 14: 1129-1131.

105. Lapierre L, Cornejo J, Borie C, Toro C, San Martin B. Genetic characterization of antibiotic resistance genes linked to class 1 and class 2 integrons in commensal strains of

Escherichia coli isolated from poultry and swine. *Microbial Drug Resistance* 2008; Vol 14: 265–272.

106. Baharoğlu Z, Mazel D. SOS, formidable strategy of bacteria against aggressions. *FEMS Microbiol Rev* 2014; Vol 38: 1126-1145.

107. Briales A, Rodriguez-Martinez JM, Velasco C, Machuca J, Diaz de Alba P, Blazquez J, Pascual A. Exposure to diverse antimicrobials induces the expression of *qnrB1*, *qnrD* and *smaqr* genes by SOS-dependent regulation. *J Antimicrob Chemother* 2012; Vol 67: 2854-2859.

108. Velasco C, Rodriguez-Martinez JM, Briales A, Diaz de Alba P, Calvo J, Pascual A. *Smaqr*, a new chromosome-encoded quinolone resistance determinant in *Serratia marcescens*. *J Antimicrob Chemother* 2010; Vol 65: 239-242.

109. Xu X, Wu S, Ye X, Liu Y, Shi W, Zhang Y, Wang M. Prevalence and expression of the plasmid-mediated quinolone resistance determinant *qnrA1*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; Vol 51: 4105-4110.

110. Rodriguez-Martinez JM, Velasco C, Pascual A, Garcia I, Martinez-Martinez L. Correlation of quinolone resistance levels and differences in basal and quinolone-induced expression from three *qnrA*-containing plasmids. *Clin Microbiol Infect* 2006; Vol 12: 440-445.

111. Okumura R, Liao C-H, Gavin M, Jacoby GA, Hooper DC. Quinolone induction of *qnrVS1* in *Vibrio splendidus* and plasmid-carried *qnrS1* in *Escherichia coli*, a mechanism independent of SOS system. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; Vol 55: 5942-5945.

112. Kwak YG, Jacoby GA, Hooper DC. Induction of plasmid-carried *qnrS1* in *Escherichia coli* by naturally occurring quinolones and quorum sensing signal molecules. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; Vol 57: 4031-4034.

113. Ellington MJ, Woodford N. Fluoroquinolone resistance and plasmid addiction systems: self-imposed selection pressure?. *J Antimicrob Chemother* 2006; Vol 65: 2530-2533.

114. Da Re S, Garnier F, Guérin E, Campoy S, Denis F, Ploy M-C. The SOS response promotes *qnrB* quinolone-resistance determinant expression. *EMBO Rep* 2009; Vol 10: 929-933.

115. Robicsek A, Strahilevitz J, Jacoby GA, Macielag M, Abbanat D, Bush K, Hooper DC. Fluoroquinolone modifying enzyme: a novel adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nature Medicine* 2006; Vol 12: 83-88.

116. Maurice F, Broutin I, Podglajen I, Benas P, Collatz E, Dardel F. Enzyme structural plasticity and the emergence of broad-spectrum antibiotic resistance. *EMBO Rep* 2008; Vol 9: 344-349.

117. Quiroga MP, Orman B, Errecalde L, Kaufman S, Centron D. Characterization of Tn6238 with a new allele of *aac(6')-Ib-cr*. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; Vol 59: 2893-2897.
118. de Toro M, Rodriguez I, Rojo-Bezares B, Helmuth R, Torres C, Guerra B, Saenz Y. pMdT1, a small CoE1-like plasmid mobilizing a new variant of the *aac(6')-Ib-cr* gene in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *J Antimicrob Chemother* 2013; Vol 68: 1277-1280.
119. Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Kimura K, Shibata N, Kato H, Shibayama K, Konda T, Arakawa Y. New Plasmid-Mediated Fluoroquinolone Efflux Pump, QepA, Found in an *Escherichia coli* Clinical Isolate. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2007; Vol 51: 3354-3360.
120. Cattoir V, Poirel L, Nordmann P. Plasmid-mediated quinolone resistance pump QepA2 in an *Escherichia coli* isolate from France. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; Vol 52: 3801-3804.
121. Liu JH, Deng YT, Zeng ZL, Gao JH, Chen L, Arakawa Y, Chen ZL. Coprevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants QepA, Qnr, and AAC(6')-Ib-cr among 16s rRNA methylase RmtB-producing *Escherichia coli* isolates from pigs. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; Vol 52: 2992-2993.
122. Hansen LH, Johannesen E, Burmolle M, Sorensen AH, Sorensen SJ. Plasmid-encoded multidrug efflux pump conferring resistance to olaquinox in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; Vol 48: 3332-3337.
123. Hansen LH, Jensen LB, Sorensen HI, Sorensen SJ. Substrate specificity of the OxqAB multidrug resistance pump in *Escherichia coli* and selected enteric bacteria. *J Antimicrob Chemother* 2007; Vol 60: 145-147.
124. Kim HB, Park CH, Kim CJ, Kim EC, Jacoby HA, Hooper DC. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants over a 9-year period. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; Vol 53: 639-645.
125. Jacoby GA, Strahilevitz J, Hooper DC. Plasmid-mediated quinolone resistance. *Microbiol Spectr* 2014; Vol 2: 1-42.
126. Rodriguez-Martinez JM, Cano ME, Velasco C, Martinez-Martinez L, Pascual A. Plasmid-mediated quinolone resistance: an update. *J Infect Chemother* 2011; Vol 17: 149-182.
127. Toleman MA, Bennett PM, Walsh TR. ISCR elements: novel gene-capturing systems of the 21st century?. *Microbiol Mol Biol Rev* 2006; Vol 70: 296-316.

128. Park Y-J, Yu JK, Kim SY, Lee S, Jeong SH. Prevalence and characteristics of qnr determinants and aac(6')-Ib-cr among ciprofloxacin-susceptible isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Korea. *J Antimicrob Chemother* 2010; Vol 65: 2041-2043.
129. Garza-Ramos U, Barrios H, Hernandez-Vargas MJ, Rojas-Moreno T, Reyna-Flores F, Tinoco P, Othon V, Poirel L, Nordmann P, Cattoir V, Ruiz-Palacios G, Fernandez JL, Santamaria RI, Bustos P, Castro N, Silva-Sanchez J. Transfer of quinolone resistance gene qnrA1 to *Escherichia coli* through a 50 kb conjugative plasmid resulting from the splitting of a 300 kb plasmid. *J Antimicrob Chemother* 2012; Vol 67: 1627-1634.
130. Rodriguez-Martinez J-M, Poirel L, Canton R, Nordmann P. Common region CR1 for expression of antibiotic resistance genes. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; Vol 50: 2544-2546.
131. Cattoir V, Poirel L, Aubert C, Soussy CJ, Nordmann P. Unexpected occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in environmental *Aeromonas* spp. *Emerg Infect Dis* 2008; Vol 14: 231-237.
132. Garau J, Xercavins M, Rodriguez-Carballeira M, Gomez-Vera JR, Coll I, Vidal D, Llovet T, Ruiz-Bremon A. Emergence and dissemination of quinolone-resistant *Escherichia coli* in the community. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; Vol 43: 2736-2741.
133. Livermore DM, James D, Reacher M et al. Trends in the fluoroquinolone (ciprofloxacin) resistance in *Enterobacteriaceae* from bacteremias, England and Wales, 1990-1999. *Emerg Infect Dis* 2002, Vol 8(5): 473-478.
134. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report. Data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control*, 2004; 32: 470-485.
135. <http://www.rivm.nl/earss/database>. [Çevrimiçi]
136. Gür D, Hascelik G, Aydin N, Telli M, Gültekin M, Ogünç D ve ark. Antimicrobial resistance in gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 Surveillance Study of 2007. *J Chemother* 2009; Vol 21(4): 383-389.
137. Manges AR, Tabor H, Tellis P, et al. Endemic and epidemic lineages of *Escherichia coli* that causes urinary tract infections. *Emerg infect Dis*, 2008; Vol 14: 1575-1583.
138. Jones GL, Warren RE, Skidmore SJ, Davies VA, Gibreel T, Upton M. Prevalence and distribution of plasmid-mediated quinolone resistance genes in clinical isolates of *Escherichia coli* lacking extended-spectrum beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother* 2008; Vol 62: 1245-1251.
139. Institute, Clinical and Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement M100-S25. USA 2015.

140. Dağlar D, Öngüt G. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) ve tanı yöntemleri. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. Cilt 1: 1-9.
141. Kennedy KJ, Roberts JL, Collignon PJ. *Escherichia coli* bacteraemia in Canberra: incidence and clinical features. Med J. 2008; Vol 188: 209-213.
142. McLellan LK, Hunstad DA. Urinary Tract Infection: Pathogenesis and Outlook. Trends Mol Med 2016; Vol 22(11): 946-957.
143. Lautenbach E, Fishman NO, Bilker WB, Castiglioni A, Metlay JP, Edelstein PH, Strom BL. Risk factors for fluoroquinolone resistance in nosocomial *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* infections. Arch Intern Med 2002; Vol 162(21): 2469-2477.
144. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US Hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. Clin Infect Dis 2004; Vol 39(3): 309-317.
145. Duman Y, Gucluer N, Serindag A, Tekerekoglu MS. *Escherichia coli* suşlarında antimikrobiyal duyarlılık ve genişlemiş beta laktamaz varlığı. Fırat Tıp 2010; Vol 15(10): 197-200.
146. Colodner R. Extended-spectrum beta-lactamases: A challenge for clinical microbiologists and infection control specialists. Am J Infect Control 2005; Vol 33(2): 104-107.
147. Yen CW, Chen DH. Urinary tract infection in children. J Microbiol Immunol Infect 1999; Vol 32(3): 199-205.
148. . Yüksel S, Öztürk B, Kavaz A. et al. Antibiotic resistance of urinary tract pathogens and evaluation of empirical treatment in Turkish children with urinary tract infections. Int J Antimicrob Agents 2006; Vol 28: 413-416.
149. Aykan ŞB, Çiftçi İH. Türkiye'de idrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotiklere direnç durumu: Bir meta-analiz. Mikrobiyol Bul 2013; Cilt 47(4): 603-618.
150. Yumuk Z, Afacan G, Nicolas-Chanoine MH, Sotto A, Lavigne JP. Turkey: a further country concerned by community-acquired *Escherichia coli* clone O25-ST131 producing CTX-M-15. J Antimicrob Chemother 2008; Vol 62(2): 284-288.
151. Karaayak Uzun B, Güngör S, İlğün MŞ, Özdemir R, Baran N, Ergin ÖY. Kan kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve in-vitro antibiyotiklere direnç paternleri. Klimik Derg 2012; Cilt 24(6): 181-186.

152. Yılmaz N, Ağus N, Köse S, Yurtsever SG, Öner Ö. Geniş spektrumlu beta-laktamaz salgılayan *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının ertapenem ve diğer antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2009; Cilt 39: 80-84.
153. Karagöz G, Kadanalı A, Dede B, Çomoğlu Ş, Muhterem Yücel F, Bektaşoğlu MF. *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve antibiyotik direnç oranları. *TAF Prev Med Bull* 201; Cilt 12: 291-296.
154. Briales A, Rodríguez-Martínez JM, Velasco C, de Alba PD, Rodríguez-Baño J, Martínez-Martínez L, Pascual A. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants *qnr* and *aac(6')-Ib-cr* in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β -lactamases in Spain. *Int J Antimicrob Agents* 2012; Vol 39(5): 431-434.
155. Wu JJ, Ko WC, Wu HM, Yan JJ. Prevalence of *qnr* determinants among bloodstream isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a Taiwanese hospital; 1999–2005. *J Antimicrob Chemother* 2008; Vol 61(6): 1234-1239.
156. Jiang Y, Zhou Z, Qian Y, Wei Z, Yu Y, Hu S, Li L. Plasmid-mediated quinolone resistance determinants *qnr* and *aac(6')-Ib-cr* in extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in China. *J Antimicrob Chemother* 2008; Vol 61: 1003-1006.
157. Strahilevitz J, Engelstein D, Adler A, Temper V, Moses AE, Block C, Robicsek A. Changes in *qnr* prevalence and fluoroquinolone resistance in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter* spp. collected from 1990 to 2005. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; Vol 51: 3001-3003.
158. Nazik H, Poirel L, Nordmann P. Further identification of plasmid-mediated quinolone resistance determinant in *Enterobacteriaceae* in Turkey. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; Vol 49: 2146-2147.
159. Nazik H, Öngen B, Kuvat N. Investigation of plasmid-mediated quinolone resistance among isolates obtained in a Turkish intensive care unit. *Jpn J Infect Dis* 2008; Vol 61(4): 310-312.
160. Nazik H, İlktaç M, Öngen B. Prevalence of *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* and *aac(6')-Ib-cr* (in *qnr*-positive isolates) among the ESBL-positive and/or ciprofloxacin-resistant isolates in Turkey. *J Chemother* 2009; Vol 21(2): 219-221.
161. Oktem IM, Gulay Z, Bicmen M, Gur D. HITIT Project Study Group. *qnrA* prevalence in extended-spectrum β -lactamase-positive *Enterobacteriaceae* isolates from Turkey. *Jpn J Infect Dis* 2008; Vol 61(1): 13-17.
162. Öngen B, Nazik H. Investigation of plasmid-mediated quinolone resistance among *Campylobacter* strains. *Farmacie Terapia* 2008; Vol 25: 37-39.

163. Poirel L, Gür D, Minarini L, Arslan U, Nordmann P. Molecular epidemiology of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in extended spectrum beta-lactamase producing *E.coli* and *K.pneumoniae* isolates from Turkey. 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2008: 1527.
164. Çoban AY, Nohut OK, Tanrıverdi Çaycı Y, Bayramoğlu G, Pirinççiler M, Çetinkaya E, Çekiç Cihan Ç, Bozdoğan B, Durupınar B. Enterobacteriaceae üyelerinde plazmid aracılı kinolon direnç determinantlarının araştırılması: çok merkezli bir çalışma. Mikrobiyol Bul 2012; Cilt 46: 366-374.
165. Hoşgör-Limoncu M, Eraç B, Yurtman AN, Aydemir S. Plasmid-mediated quinolone resistance mechanisms in ESBL positive *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains at a tertiary-care hospital in Turkey. J Chemother 2012; Vol 24: 144-149.
166. Ciesielczuk H, Hornsey M, Choi V, Woodford N, Wareham DW. Development and evaluation of a multiplex PCR for eight plasmid-mediated quinolone-resistance determinants. Journal of Medical Microbiology 2013, Vol 62: 1823–1827.
167. Jlili NE, Re'jiba S, Smaoui H,Guillard T, Chau F et al. Trend of plasmid-mediated quinolone resistance genes at the Children's Hospital in Tunisia. Journal of Medical Microbiology 2014; Vol 63: 195-202.
168. Tigen ET, Tandoğdu Z, Altınkanat G, Doğru A, Sengel BE et al. Prevalence of CTX-M enzyme and *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrS*, *aac*-(6)-Ib genes among ESBL (Extended spectrum beta lactamase)-positive isolates in patients undergoing transrectal needle prostate biopsy in Turkey. Dis Mol Med 2016; Vol 4: 1-5.
169. Guillard T, Duval V, Moret H, Brasme L, Garnier VV, Champs C. Rapid Detection of *aac*(6')-Ib-cr quinolone resistance gene by pyrosequencing. J Clin Microbiol 2010; Vol 48: 286-289.
170. Haldorsen BC et al. Increased prevalence of aminoglycoside resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in Norway is associated with the acquisition of AAC(3)-II and AAC(6')-Ib. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2014; Vol 78: 66-69.
171. Park CH, Robicsek A, Jacoby GA, Sahm D, Hooper CD. Prevalence in the United States of *aac*(6')-Ib-cr Encoding a Ciprofloxacin-Modifying Enzyme. Antimicrob Agents Chemother 2006; Vol 50: 3953-3955.
172. Jiang X, Yu T. Detection of *qnr*, *aac*(6')-Ib-cr and *qepA* genes in *Escherichia coli* isolated from cooked meat products in Henan, China. International Journal of Food Microbiology 2014; Vol 187: 22-25.

173. Okade H, Nakagawa S, Sakagami T, Hisada H, Nomura N et al. Characterization of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* from Tokai, Japan. *J Infect Chemother* 2014; Vol 20: 778-783.
174. Reyna-Flores F, Barrios H, Garza-Ramos U, Sanchez-Perez A, Rojas-Moreno T et al. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* O25b-ST131 isolates causing community-acquired UTIs in Mexico. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases* 2013; Vol 76: 396-398.
175. Hassan WM, Hashim A, Domany RAA. Plasmid mediated quinolone resistance determinants *qnr*, *aac(6')-Ib-cr*, and *qep* in ESBL-producing *Escherichia coli* clinical isolates from Egypt. *Indian J Med Microbiol* 2012; Vol 30: 442-447.
176. Park SK, Lee MH, Park ST, Nam YS, Lee HJ et al. Prevalence of the plasmid-mediated quinolone resistance genes, *aac(6')-Ib-cr*, *qepA*, and *oqxAB* in clinical isolates of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Korea. *Ann Clin Lab Sci* 2012; Vol 42: 191-197.
177. Longhi C, Conte MP, Marazzato M, Lebbe V, Totino V et al. Plasmid-mediated fluoroquinolone resistance determinants in *Escherichia coli* from community uncomplicated urinary tract infection in an area of high prevalence of quinolone resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; Vol 31: 1917–1921.
178. Nazik H, Öngen B, Mete B, Aydin S, Yemişen M. Coexistence of *blaOXA-48* and *aac(6')-Ib-cr* genes in *Klebsiella pneumoniae* isolates from Istanbul, Turkey. *J Int Med Res* 2011; Vol 39: 1932-1940.
179. Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Arakawa Y. Plasmid-mediated *qepA* gene among *Escherichia coli* clinical isolates from Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; Vol 52: 1564-1566.
180. Amin AK, Wareham DW. Plasmid-mediated quinolone resistance genes in Enterobacteriaceae isolates associated with community and nosocomial urinary tract infection in East London, UK. *Int J Antimicrob Agents* 2009; Vol 34: 490-503.
181. Gülay Z, Biçmen M, Gür D. Prevalence and diversity of plasmid-mediated quinolone resistance genes in extended-spectrum beta-lactamase positive *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: first report of *qepA* from Turkey. *Clin Microbiol Infect* 2010; Vol 16: 193.
182. Nazik H, Bektöre B, Öngen B, Ilktaş M, Özyurt M et al. Plasmid-mediated quinolone resistance genes in *Escherichia coli* urinary isolates from two teaching hospitals in Turkey: coexistence of TEM, SHV, CTX-M and VEB-1 type β -lactamases. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 2011; Vol 10: 325-333.
183. Sana F, Mabrouka S, Claudine Q, Faouzi SA, Ilhem BBB et al. Prevalence and characterization of uropathogenic *Escherichia coli* harboring plasmid-mediated quinolone

resistance in a Tunisian university hospital. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2014; Vol 79: 247-251.

184. Buruk CK, Öztel Ocak H, Bayramoğlu G, Aydın F. Investigation of plasmid-mediated quinolone resistance genes in quinolone-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. isolates from bloodstream infections. *Mikrobiyol Bul* 2016; Vol 50: 186-195.

185. Rodríguez-Martínez JM, Machuca J, Cano ME, Calvo J, Martínez-Martínez L, Pascual A. Plasmid-mediated quinolone resistance: Two decades. *Drug Resistance Updates* 2016; Vol 29: 13-29.

