



T.C.  
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK  
ANABİLİM DALI

**KLİNİK *Escherichia coli* İZOLATLARINDA PLAZMİT  
ARACILI KİNOLON DİRENÇ GENLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**AHMED MOHSIN SALEH AL-AZZAWI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KIRŞEHİR / 2022**



T.C.  
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK  
ANABİLİM DALI

**KLİNİK *Escherichia coli* İZOLATLARINDA PLAZMİT  
ARACILI KİNOLOK DİRENÇ GENLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**AHMED MOHSIN SALEH AL-AZZAWI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. FATMA FİLİZ ARI**

**KIRŞEHİR / 2022**

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

AHMED MOHSIN SALEH AL-AZZAWI



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.



## ÖNSÖZ

Yüksek Lisans sürecinde her zaman bana örnek olmasının yanı sıra bir bilim insanının nasıl çalışması gerektiğini öğreten ve yapıcı eleştirileri ile her zaman yardımcı olan değerli danışmanım Prof. Dr. Fatma Filiz ARI'ya desteği ve katkıları için sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek Lisans dersleri aldığım ve özellikle laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımcı olarak tezime önemli katkılar veren hocam Prof. Dr. Elif SEVİM e, teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmamda kullandığım klinik izolatları temin eden Doç. Dr. Fikriye MİLLETLİ-SEZGİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Tezimi değerlendiren ve nihai hale gelmesinde katkıları olan değerli jüri üyelerim Dr.Öğr. Üyesi Ebru ÖNEM ve Dr.Öğr. Üyesi Cihat ÖZTÜRK'e büyük bir içtenlikle teşekkür ederim.

Başta, M. Fatih KARASU olmak üzere laboratuvarında çalışan tüm Yüksek Lisans öğrencisi arkadaşlarıma en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Desteğini, sevgisini sürekli hissettiğim, hayatımın vazgeçilmez parçaları olan değerli anneme ve sevgili kardeşlerime tez sürem boyunca manevi destekleri ile yanımda oldukları için minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Aralık, 2022

AHMED MOHSIN SALEH AL-AZZAWI

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

|                                                        |          |
|--------------------------------------------------------|----------|
| ÖNSÖZ.....                                             | iv       |
| İÇİNDEKİLER.....                                       | v        |
| ŞEKİL LİSTESİ.....                                     | vii      |
| TABLO LİSTESİ.....                                     | viii     |
| SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....                         | ix       |
| ÖZET.....                                              | x        |
| SUMMARY .....                                          | xiii     |
| <b>1. GİRİŞ.....</b>                                   | <b>1</b> |
| 1.1. Amaç.....                                         | 1        |
| 1.2. Önem.....                                         | 1        |
| <b>2. GENEL KISIMLAR.....</b>                          | <b>3</b> |
| 2.1. <i>E. coli</i> .....                              | 3        |
| 2.1.1. Tarihçe .....                                   | 3        |
| 2.1.2. Mikrobiyolojik Özellikleri .....                | 3        |
| 2.1.3. <i>E. coli</i> Enfeksiyonları .....             | 5        |
| 2.1.3.1. Bağırsak Enfeksiyonları.....                  | 5        |
| 2.1.3.2. Bağırsak Dışı Enfeksiyonları.....             | 6        |
| 2.1.3.2.1. İdrar Yolu Enfeksiyonları (İYE).....        | 6        |
| 2.1.3.2.2. Bakteriyemi (Sepsis).....                   | 7        |
| 2.1.3.2.3. Yenidoğan Menenjit.....                     | 8        |
| 2.1.3.2.4. Solunum Yolu Enfeksiyonu.....               | 8        |
| 2.1.4. Korunma ve Tedavi .....                         | 9        |
| 2.2. Antibiyotikler.....                               | 10       |
| 2.2.1. Antibiyotik Direnci.....                        | 11       |
| 2.2.2. Direnç Tipleri.....                             | 12       |
| 2.2.2.1. Doğal Direnç.....                             | 12       |
| 2.2.2.2. Çevresel şartlara bağlı direnç.....           | 12       |
| 2.2.2.3. Kazanılmış direnç.....                        | 13       |
| 2.2.3. Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları..... | 14       |
| 2.3. Kinolonlar.....                                   | 15       |
| 2.3.1. Kinolonların kimyasal yapısı.....               | 18       |

|                                                                                          |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.3.2. Kinolonların Etki Mekanizması.....                                                | 19        |
| 2.3.4. Kinolonlara Karşı Direnç Mekanizmaları.....                                       | 21        |
| 2.3.4.1. Hedef Enzimlerdeki Mutasyonlar.....                                             | 22        |
| 2.3.4.2. Kinolon Birikiminin Önlenmesi.....                                              | 23        |
| 2.3.4.3. Plazmit Aracılı Kinolon Direnci.....                                            | 25        |
| 2.3.4.3.1. Qnr proteinleri.....                                                          | 26        |
| 2.3.4.3.2. AAC(6')-Ib-cr Enzimi.....                                                     | 28        |
| 2.3.4.3.3. PMQR aktif dışa atım (efflux) pompa proteinleri (OqxAB ve QepA).....          | 28        |
| <b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>                                                        | <b>31</b> |
| 3.1. Malzemeler.....                                                                     | 31        |
| 3.1.1. Besiyerleri ve Kimyasallar.....                                                   | 31        |
| 3.1.2. Cihazlar.....                                                                     | 31        |
| 3.1.3. Primerler.....                                                                    | 32        |
| 3.1.4. Referans ve Rekombinant Suşlar.....                                               | 32        |
| 3.1.5. <i>E. coli</i> İzolatları.....                                                    | 32        |
| 3.2. Yöntemler.....                                                                      | 33        |
| 3.2.1. Referans Suşlar ve Klinik İzolatlardan Total DNA İzolasyonu.....                  | 33        |
| 3.2.2. Plazmit Aracılı Kinolon Direnç Genlerinin Tespiti.....                            | 33        |
| 3.2.3. Konjugasyon Deneyleri .....                                                       | 34        |
| 3.2.4. Transkonjugant Hücrelerin Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi.....         | 34        |
| <b>4. BULGULAR.....</b>                                                                  | <b>35</b> |
| 4.1. <i>E. coli</i> İzolatları ve Antibiyotik Direnç Profilleri.....                     | 35        |
| 4.2. <i>E. coli</i> İzolatlarında Plazmit Aracılı Kinolon Direnç Genlerinin Varlığı..... | 39        |
| 4.3. Aktarılabılır Plazmit Aracılı Kinolon Direnç Genlerinin Varlığı.....                | 39        |
| <b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>                                                         | <b>42</b> |
| <b>KAYNAKLAR.....</b>                                                                    | <b>55</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>                                                                     | <b>71</b> |

## ŞEKİL LİSTESİ

|                                                                                                       | Sayfa No |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Şekil 2.1. Bakteriyemi ile ilişkili <i>Enterobacteriaceae</i> ailesi üyelerinin görülme sıklığı ..... | 8        |
| Şekil 2.2. Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç mekanizmalarının şeması.....                     | 17       |
| Şekil 2.3. Kinolonların çekirdek yapısı .....                                                         | 18       |
| Şekil 2.4. Kinolonların gelişimi ve bazı önemli florokinolonların kimyasal yapısı.....                | 19       |
| Şekil 2.5. Bakteri hücresinde kinolon direncine neden olan mekanizmalar.....                          | 21       |
| Şekil 4.1. PCR sonrası kinolon direnç genlerinin örnek agaroz jel görüntüsü....                       | 39       |

## TABLO LİSTESİ

|                                                                                                                                                                                  | Sayfa No |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <b>Tablo 2.1.</b> Bağırsak enfeksiyon etkeni <i>E. coli</i> tipleri ve özellikleri .....                                                                                         | 6        |
| <b>Tablo 2.2.</b> <i>Enterobacteriaceae</i> tedavisinde kullanılan antimikrobiyal grupları....                                                                                   | 10       |
| <b>Tablo 2.3.</b> Kinolonlar, mikrobiyolojik etkinlikleri ve klinikte kullanımları.....                                                                                          | 17       |
| <b>Tablo 3.1.</b> Çalışmada kullanılan primerler.....                                                                                                                            | 32       |
| <b>Tablo 4.1.</b> Kinolon dirençli <i>E. coli</i> izolatlarının demografik özellikleri ve antibiyotik direnç profilleri.....                                                     | 36       |
| <b>Tablo 4.2.</b> Kinolon direnç genlerini ve konjugatif plazmit içeren <i>E. coli</i> izolatları.....                                                                           | 40       |
| <b>Tablo 4.3.</b> Klinik <i>E. coli</i> izolatları ve transkonjugant <i>E. coli</i> J53-2 hücrelerinin antibiyotik direnç profilleri ve direnç genlerinin karşılaştırılması..... | 41       |
| <b>Tablo 5.1.</b> Türkiye’de yapılan bazı çalışmalarda <i>E. coli</i> izolatlarında <i>qnr</i> ve <i>aac(6’)-Ib-cr</i> genlerinin prevalansı.....                                | 49       |

## SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

| Simgeler | Açıklama           |
|----------|--------------------|
| lt       | : Litre            |
| ml       | : Mililitre        |
| µl       | : Mikrolitre       |
| kg       | : Kilogram         |
| gr       | : Gram             |
| mg       | : Miligram         |
| µg       | : Mikrogram        |
| ng       | : Nanogram         |
| M        | : Molar            |
| mM       | : Milimolar        |
| µM       | : Mikromolar       |
| pmol     | : Pikomol          |
| mm       | : Milimetre        |
| µm       | : Mikrometre       |
| °C       | : Santigrat derece |
| %        | : Yüzde            |
| U        | : Ünite            |

| Kısaltmalar       | Açıklama                                                  |
|-------------------|-----------------------------------------------------------|
| bp                | : Baz çifti                                               |
| kb                | : Kilobaz çifti                                           |
| sn                | : Saniye                                                  |
| dk                | : Dakika                                                  |
| dNTP              | : DeoksiNükleotit Üç Fosfat                               |
| Taq               | : <i>Thermus aquaticus</i>                                |
| TAE               | : Tris-Asetik Asit-EDTA tamponu                           |
| MgCl <sub>2</sub> | : Magnezyum Klorür                                        |
| UV                | : Ultra Viyole                                            |
| PCR               | : Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction) |
| DNA               | : Deoksiribo Nükleik Asit                                 |
| RNA               | : Ribo Nükleik Asit                                       |
| QRDR              | : Quinolone Resistance Determining Region                 |
| PMQR              | : Plasmid Mediated Quinolone Resistance                   |
| LPS               | : Lipopolisakkarit                                        |
| GSBL              | : Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz                          |
| ATCC              | : American Type Culture Collection                        |

# ÖZET

## YÜKSEK LİSANS TEZİ

### KLİNİK *Escherichia coli* İZOLATLARINDA PLAZMİT ARACILI KİNOLON DİRENÇ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

AHMED MOHSIN SALEH AL-AZZAWI

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fatma Filiz Arı

*Escherichia coli* (*E. coli*) kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde kullanılan kinolon grubu antibiyotiklere duyarlılık giderek azalmaktadır. Buna bağlı olarak, kinolon dirençli izolatların dünya genelinde daha fazla rapor edildiği görülmektedir. Bakterilerde kinolon direnç gelişimi kromozomal veya plazmit kaynaklı olabilir. Plazmit aracılı kinolon direncinden *qnr* genleri, *aac(6')-Ib-cr* geni ve *qepA/oqxAB* genleri sorumludur. Kinolonlara duyarlılığı azaltan bu genlerin ayrıca bakterilerde kromozomal mutasyon oluşumunu tetikleyici rol oynadıkları ve bu durumun yüksek düzey kinolon direncine yol açarak tedaviyi zorlaştırdığı belirlenmiştir. Genellikle konjugatif plazmitler üzerinde taşınan bu genlerin bakteriler arasında konjugasyon yoluyla horizontal aktarımının kinolon direncinin hızlı bir şekilde yayılmasında önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Fenotipik testlerle saptanamayan plazmid aracılı kinolon direncinin moleküler tespiti ve prevalansının takibi hastanelerde kinolon direnç yayılımının önlenmesi açısından son derece önemlidir.

Bu tez çalışmasında, siprofloksasine dirençli klinik *E. coli* izolatlarında plazmit aracılı *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* ve *aac(6')-Ib-cr* genlerinin varlığının araştırılması ve bu genlerin konjugatif plazmitler ile taşıyıp taşımadığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, Eylül 2018-Ocak 2019 tarihleri arasında Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi

(KAEÜEAH) servis ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilmiş 59 klinik *E. coli* izolatu Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına'ndan temin edildi. Vitek-2 otomatize sistemi ile identifikasyonu ve antibiyotik direnci tayini yapıldıktan sonra hastane kültür koleksiyonunda saklanmış olan *E. coli* izolatları, laboratuvarımızda uygun besiyerinde canlandırıldı. İzolatların total DNA'ları elde edildi ve en yaygın plazmid aracılı kinolon direnç genleri olan *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* ve *aac(6')-Ib-cr*'nin varlığı PCR yöntemiyle araştırıldı. İzolatlarda konjugatif plazmitlerin varlığını saptamak ve direnç genlerinin aktarılabilişliğini belirlemek için konjugasyon deneyleri gerçekleştirildi.

Çalışılan 59 *E. coli* izolatının hiçbirisi (%100) *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* genlerini taşımazken, 39 (%66,1) izolat *aac(6')-Ib-cr* geni için pozitif bulundu. Bu bulgu, *aac(6')-Ib-cr* geni taşıyan *E. coli* izolatlarının, *qnr* genleri taşıyan izolatlardan önemli ölçüde daha yaygın olduğunu gösteren ulusal ve uluslararası çalışmaların sonuçlarıyla uyumluydu.

Konjugasyon deneylerinin sonuçları, 59 *E. coli* izolatından Ec15, Ec20, Ec22, Ec64, Ec82, Ec87, Ec131, Ec104, Ec117 ve Ec146 olarak anılan 10'unun (%16.9) konjugatif bir plazmit taşıdığını gösterdi. Daha sonra, bu *E. coli* izolatlarından konjugatif plazmidlerin aktarıldığı *E. coli* J53-2 transkonjugant hücrelerin antibiyotik duyarlılık paternleri disk difüzyon yöntemi ile araştırıldı. Sonuçlar, her transkonjugant hücrenin fenotipik olarak kendi yaban tip *E. coli* izolatu ile aynı antibiyotik direnç profilini sergilediğini gösterdi. Son olarak, *E. coli* izolatlarından *E. coli* J53-2 transkonjugant hücrelere aktarılan konjugatif plazmitlerde *aac(6')-Ib-cr* geninin varlığını araştırmak için transkonjugant hücrelerden plazmitler izole edildi ve *aac(6')-Ib-cr* geni PCR ile çoğaltıldı. Sonuçlar 7 transkonjugant hücrenin *aac(6')-Ib-cr* pozitif, diğer 3 hücrenin ise negatif olduğunu gösterdi. Antibiyogram ve PCR bulguları birlikte, *aac(6')-Ib-cr* pozitif Ec15, Ec20, Ec22, Ec64, Ec82, Ec131 ve Ec146 izolatlarında *aac(6')-Ib-cr* geninin çoklu antibiyotik direnci taşıyan konjugatif plazmitler üzerinde yer aldığını gösterdi. Öte yandan, *aac(6')-Ib-cr* negatif Ec87, Ec104 ve Ec117 izolatlarından konjugatif plazmitlerin aktarıldığı *E. coli* J53-2 transkonjugant hücrelerde fenotipik olarak kinolon direnci saptanmasına rağmen, konjugatif plazmitlerde *aac(6')-Ib-cr* geni mevcut değildi. Bu gözlem, bu 3 izolatın konjugatif plazmitlerinin, diğer 7 izolatta bulunan *aac(6')-Ib-cr* geninden farklı kinolon direnç geni veya genlerine sahip olduğunu düşündürdü.

Gerçekleştirilen bu tez, hastanemizde enfeksiyona neden olan klinik *E. coli* izolatlarında plazmit aracılı kinolon direncinin kapsamlı olarak araştırıldığı ilk çalışmadır. Sonuçlar, plazmit aracılı *aac(6')-Ib-cr* genini içeren izolatların prevalansının oldukça yüksek (%66,1)

olduğunu göstermiştir. Ayrıca *aac(6')-Ib-cr* geninin bazı izolatlarda konjugatif plazmitler üzerinde çoklu antibiyotik direnç genleriyle birlikte taşındığı saptanmıştır. Çoklu antibiyotik direnç geni taşıyan konjugatif plazmitler içeren izolatların varlığı, hastanemizde *E. coli* enfeksiyonlarının tedavi seçeneklerini sınırlayabilecek önemli bir sorundur. Son olarak çalışmamız, enfeksiyöz mikroorganizmaların antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesinde fenotipik testlerin yanı sıra genotipik testlerin de kullanılmasının faydalı olacağını vurgulamaktadır.

Aralık 2022, 71 Sayfa

**Anahtar Kelimeler:** *E. coli*, PCR, Plazmid aracılı kinolon direnci (PMQR), Konjugatif plazmit, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *acc-6'-Ib-cr*

## **SUMMARY**

**M.Sc. THESIS**

# **INVESTIGATION OF PLASMID-MEDIATED QUINOLONE RESISTANCE GENES IN CLINICAL *Escherichia coli* ISOLATES**

**AHMED MOHSIN SALEH AL-AZZAWI**

**Kirsehir Ahi Evran University  
Graduate School of Sciences and Engineering  
Molecular Biology and Genetics Department**

**Supervisor: Prof. Dr. Fatma Filiz Ari**

The susceptibility to quinolone group antibiotics used in the treatment of infections caused by *Escherichia coli* (*E. coli*) is gradually decreasing. Accordingly, it is seen that quinolone resistant isolates are reported more frequently around the world. The development of quinolone resistance in bacteria may be of chromosomal or plasmid origin. The *qnr* genes, *aac(6')-Ib-cr* gene and *qepA/oqxAB* genes are responsible for plasmid-mediated quinolone resistance. It has been determined that these genes, which reduce susceptibility to quinolones, also play a triggering role in the formation of chromosomal mutations in bacteria, and this situation causes high level of quinolone resistance and complicates the treatment. It has been shown that horizontal transmission of these genes, which are usually carried on conjugative plasmids, between bacteria by conjugation plays an important role in the rapid spread of quinolone resistance. Molecular detection and monitoring of the prevalence of these plasmid-mediated quinolone resistance which cannot be detected by

phenotypic tests, are extremely important in terms of preventing the spread of quinolone resistance in hospitals.

In this thesis, it was aimed to investigate the presence of plasmid-mediated *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* and *aac(6')-Ib-cr* genes in ciprofloxacin-resistant clinical *E. coli* isolates and to determine whether these genes are carried by conjugative plasmids. For this purpose, 59 clinical *E. coli* isolates which were isolated from clinical samples of the patients hospitalized in the service and intensive care units of Kırşehir Ahi Evran University Training and Research Hospital (KAEÜEAH) between September 2018 and January 2019, were obtained from the Medical Microbiology Laboratory. *E. coli* isolates, stored in the hospital culture collection following their identification and the antibiotic resistance determination by the Vitek-2 automated system, were revived in the appropriate medium in our laboratory. Total DNAs of the isolates were obtained and the presence of *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* and *aac(6')-Ib-cr*, which are the most common plasmid-mediated quinolone resistance genes, were investigated by PCR method. Conjugation experiments were performed to detect the presence of conjugative plasmids in the isolates and to determine the transferability of resistance genes.

While none of the 59 *E. coli* isolates (100%) examined carried the *qnrA*, *qnrB* and *qnrS* genes, 39 (66.1%) isolates were positive for the *aac(6')-Ib-cr* gene. This finding was in agreement with the results of national and international data showing that *E. coli* isolates carrying the *aac(6')-Ib-cr* gene were significantly more common than isolates carrying the *qnr* genes.

The results of the conjugation experiments showed that 10 (16.9%) of the 59 *E. coli* isolates, namely Ec15, Ec20, Ec22, Ec64, Ec82, Ec87, Ec131, Ec104, Ec117 and Ec146, carried a conjugative plasmid. Then, antibiotic susceptibility patterns of *E. coli* J53-2 transconjugant cells in which conjugative plasmids were transferred from these *E. coli* isolates were investigated by disk diffusion method. The results showed that each transconjugant cell phenotypically exhibited the same antibiotic resistance profile as its wild-type *E. coli* isolate. Finally, to investigate the presence of *aac(6')-Ib-cr* gene in conjugative plasmids transferred from *E. coli* isolates into *E. coli* J53-2 transconjugate cells, plasmids were isolated from transconjugate cells and *aac(6')-Ib-cr* gene was amplified by PCR. The results showed that 7 transconjugant cells were *aac(6')-Ib-cr* positive and the other 3 cells were negative. Antibigram and PCR findings together showed that *aac(6')-Ib-cr* gene was located on conjugative plasmids with multiple antibiotic resistance in *aac(6')-Ib-cr* positive Ec15,

Ec20, Ec22, Ec64, Ec82, Ec131 and Ec146 isolates. On the other hand, although quinolone resistance was detected phenotypically in *E. coli* J53-2 transconjugant cells into which conjugative plasmids were transferred from *aac*-(6')-*Ib-cr* negative Ec87, Ec104 and Ec117 isolates, *aac*-(6')-*Ib-cr* gene was not present on conjugative plasmids. This observation suggested that the conjugative plasmids of these 3 isolates had quinolone resistance gene or genes different from the *aac*-(6')-*Ib-cr* gene found in the other 7 isolates.

This thesis is the first study to investigate plasmid-mediated quinolone resistance in clinical *E. coli* isolates causing infection in our hospital. This thesis is the first study to comprehensively investigate plasmid-mediated quinolone resistance in clinical *E. coli* isolates causing infection in our hospital. The results showed that the prevalence of isolates containing the plasmid-mediated *aac*(6')-*Ib-cr* gene was quite high (66.1%). In addition, *aac*(6')-*Ib-cr* gene was found to be carried together with multiple antibiotic-resistance genes on conjugative plasmids in some isolates. The presence of isolates containing conjugative plasmids carrying multiple antibiotic-resistance genes is an important problem that may limit the treatment options of *E. coli* infections in our hospital. Finally, our work emphasizes that it would be beneficial to use genotypic tests as well as phenotypic tests in determining the antibiotic resistance profiles of infectious microorganisms.

December 2022, 71 Pages

**Keywords:** *E. coli*, PCR, Plasmid-mediated quinolone kinolon resistance (PMQR), Conjugative plasmid, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *acc-6'-Ib-cr*

# 1. GİRİŞ

Gram-negatif basillerin oluşturduğu *Enterobacteriaceae* ailesinin bir üyesi olan *E. coli* insanlarda en sık görülen enfeksiyon etkenlerinden biri olarak idrar yolu enfeksiyonları, bağırsak enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları, bakteriyemi ve yenidoğan menenjit gibi hastalıklardan sorumludur (Murray ve diğ., 2010). Kinolonlar, bulaşıcı hastalık etkenlerinin tedavisinde 1990'lardan bu yana yaygın olarak kullanılan sentetik ve geniş spektrumlu bir antimikrobiyal ajan sınıfıdır (Hooper ve Wolfson, 1991). *E. coli* de dahil olmak üzere tüm *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerine karşı güçlü bir aktiviteye sahip olan kinolonların tedavide sıklıkla ve özellikle ampirik olarak kullanılması toplum ve hastane kaynaklı izolatlarda kinolon grubu antibiyotiklere direnç gelişimine neden olmakta ve bu durum tedavide kullanımlarını önemli ölçüde kısıtlamaktadır (Huh ve diğ., 2013; Redgrave ve diğ., 2014).

## 1.1. Amaç

Bu tez çalışmasında, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi (KAEÜEAH) servis ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilen 59 *E. coli* izolatında plazmit aracılı *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* ve *aac(6')-Ib-cr* kinolon direnç genlerinin tespiti ve bu genleri içeren plazmitlerin aktarılabiliirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 1.2. Önem

İnsan ve hayvanların kalın bağırsağında yaşayan *E. coli*, idrar yolu enfeksiyonları yanı sıra menenjit, mastit, peritonit, septisemi ve pnömoni gibi ciddi hastalıklara neden olan fırsatçı bir patojendir. Son yıllarda, tedavide ön planda olan geniş spektrumlu kinolon grubu antibiyotiklerin aşırı kullanımı ile hastane ve toplum kökenli *E. coli* izolatlarında kinolon direnci yüksek seviyelere ulaşmıştır (de Kraker ve diğ., 2013; Chakrabarty ve diğ., 2016). Kinolonlara karşı direnç, kromozomal veya plazmit aracılı (plazmid mediated quinolone resistance, PMQR) olarak gelişebilmektedir (Aldred ve diğ., 2014). Direncin hızlı yayılmasında ise plazmit aracılı kinolon direnç genlerinin (*qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrS*, *qnrD*, *aac(6')-Ib-cr*, *qepA* ve *oqxAB*) konjugatif plazmitlerle horizontal aktarımı önemli rol oynamaktadır (Li, 2005; Jacoby, 2005; Chakrabarty ve diğ., 2016). Bu nedenle, klinik *E.*

*coli* izolatlarında özellikle en yaygın rastlanan PMQR genlerinin (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS* ve *aaa(b)-Ib-cr*) saptanması, prevalansının takibi ve bu genleri taşıyan plazmitlerin aktarılabirliğinin tespiti hastane ortamında kinolon direnç yayılımının önlenmesi açısından önem arz etmektedir (Buruk ve diğ., 2016; Pazarlı ve diğ., 2017)



## 2. GENEL KISIMLAR

### 2.1. *E. coli*

#### 2.1.1. Tarihçe

*Escherichia coli*, ilk kez 1855'te Alman çocuk doktoru Theodor Escherich tarafından sağlıklı bebeklerin dışkıında bulunan zararsız saprofit bir bakteri olarak tanımlanarak *Bacterium coli commune* adı verilmiştir. Daha sonra izole eden kişiye ithaf edilerek *Escherichia coli* olarak adlandırılmıştır (Baron ve diğ., 1994).

Uzun süre, zararsız bakteri olarak dışkıda bulunduğu düşünülen *E. coli*'nin 1940 ile 1990 yılları arasında insanda hastalıklara neden olan enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enterohemorajik *E. coli* (EHEC), enteroagregatif *E. coli* (EAEC) ve diffüz adezif *E. coli* (DAEC) suşları izole edilerek tanımlanmıştır (Riley ve diğ., 1983; Nataro ve Kaper, 1998; Levine, 1987; Töreci, 2002; García ve Fox, 2021). Birçok morbidite ve mortalite ile ilişkilendirilmesi sonucunda bir fırsatçı patojen olarak klinik önemi anlaşılmıştır (Chen ve Frankel, 2005).

#### 2.1.2. Mikrobiyolojik Özellikleri

*Enterobacteriaceae* ailesinin bir üyesi olan *Escherichia* cinsinin en önemli ve en yaygın türü olan *E. coli*, doğada toprak ve suda bulunur. Sıcakkanlı hayvanların gastrointestinal sistemine doğumdan sonraki birkaç saat veya gün içinde bağırsakların iç yüzeyini kaplayan mukusa tutunarak yerleşir. Patojen mikroorganizmaların kolonizasyonunu önleyerek bağırsak fizyolojisinin korunmasında önemli rol oynayan *E. coli* insan ve hayvanların normal bağırsak florasında bulunan türler arasında en baskın olanıdır. Öte yandan, enfeksiyöz özellikli bazı *E. coli* izolatları fırsatçı patojen olarak bağırsak ve bağırsak dışı birçok enfeksiyona sebep olabilirler. Bağırsak dışı *E. coli* enfeksiyonları genellikle hastane kaynaklıdır (Siitonen, 1992; Erdem, 1999; Torres ve diğ., 2010).

Aerop ve fakültatif anaerop, Gram-negatif ve çubuk şekilli (ortalama 2-6 µm uzunluğunda ve 1-1.5 µm genişliğinde), spor oluşturmeyen *E. coli* suşlarının bir kısmı tüm hücre yüzeyine yayılmış (peritrik) kamçıları sayesinde hareketlidir ancak kamçısız olanları hareketsizdir.

(Erdem, 1999; Bilgehan, 2000; Torres ve diğ., 2010). Bazıları ayrıca fimbria (pili) taşırlar, bunlar kromozom aracılı fimbria ve konjugatif plazmit ile kodlanan seks pilisi olarak iki tiptedir. İlki spesifik konakçı reseptörlerine bağlanmayı sağlarken, ikincisi bakteriler arasında gen transferinde rol oynar (Erdem, 1999; Bilgehan, 2000; Torres ve diğ., 2010; Murray ve diğ., 2010).

Dezenfektanlara karşı hassas olan *E. coli*, diğer dış etkenlere karşı oldukça dayanıklı olup, 55°C'de 1 saat, 60°C'de 20-30 dakika, oda sıcaklığında ise uzun süre canlı kalabilir ve soğuğa karşı da dirençlidir (Baron ve diğ., 1994). *E. coli*'ye bu özellikleri kazandıran taşıdığı lipopolisakkarit (LPS) hücre duvarı antijenidir. LPS ısıya dayanıklıdır ve somatik O polisakkariti, kor polisakkariti ve lipid A olmak üzere üç bileşenden oluşur. Kor polisakkariti tüm *Enterobacteriaceae* üyelerinde ortak antijendir, O polisakkariti tür içindeki suşları belirleyicidir ve lipid A ise endotoksin aktivitesinden sorumlu olan bir virülans faktördür. *E. coli*'de somatik O polisakkaritine ilave olarak kamçı yani flajellar H proteini ve kapsüler K antijeni bulunabilir. K ve H antijenleri ısıya duyarlıdır. Antijenler kendilerine karşı hazırlanan immün serumların kullanıldığı reaksiyonlarda spesifik antikor ve antijenin aglütinasyonu ile belirlenirler. Çeşitli hastalık tabloları ile enfeksiyon etkenlerinin taşıdığı antijen tipleri arasında ilişki vardır ve *E. coli*'nin serotiplendirmesinde genellikle O ve H antijenleri kullanılır (Bilgehan, 2000; Murray ve diğ., 2010).

Üreme için zengin besiyerine ihtiyaç duymayan *E. coli* suşları, buyyon ve peptonlu suda, 37°C'de, nötr pH'da ve aerobik koşullarda hızla üreyebilirler. Adi agar besiyerinde, 18-24 saat içinde genellikle 2-3 mm çapında, parlak, gri-beyaz renkte ve düzgün kenarlı (S tipi) ıslak koloniler oluşturarak ürerler. Tekrarlanan pasajlarda mat ve granüler (R tipi) koloniler oluştururlar. Bazı *E. coli* suşları belirgin kapsül yapısına sahiptir ve parlak, yapışkan ve sümüksü mukoid (M tipi) koloniler oluştururlar. Eosin Methylene Blue (EMB) agarda mavi-siyah yeşilimsi metalik koloniler oluşturan *E. coli* suşları kanlı agarda 1-2 mm çapında nemli görünen gri koloniler, McConkey agar ve Salmonella-Shigella (SS) agar besiyerlerinde 2-3 mm çapında pembe-kırmızı koloniler şeklinde ürerler. Üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen bazı suşları kanlı agarda hemoliz oluşturabilirler. (Erdem, 1999; Bilgehan, 2000; Torres ve diğ., 2010).

*E. coli*'nin glikoz, laktoz, maltoz, mannitol, ramnoz, arabinoz, sorbitol, trehaloz ve ksiloz gibi karbonhidratları fermente ederek asit ve gaz oluşturma özelliği diğer enterik

bakterilerden ayırımında kullanılır. Katalaz pozitif, oksidaz negatif olup üreyi parçalayamazlar. Sitrat kullanımı negatiftir, triptofandan indol oluşturma ve metil kırmızısı testi pozitiftir. Hidrojen sülfür (H<sub>2</sub>S), DNase, üreaz veya fenilalanindeaminaz oluşturmazlar (Bilgehan, 2000; Murray ve diğ., 2010).

### **2.1.3. *E. coli* Enfeksiyonları**

Bağırsakta kommensal olarak yaşayan nonpatojen *E. coli*'ler bağışıklığı baskılanmış hastalarda ve sindirim sisteminin savunma mekanizmasındaki bozukluklarda enfeksiyöz bir ajan olabilen ve vücutta farklı dokulara geçtiğinde çeşitli hastalıklar oluşturabilen fırsatçı patojen bakterilerdir (Erdem, 1999). *E. coli*'ler hemen her organ ve dokuda enfeksiyona neden olabilirler ve enfeksiyonların mukozal yüzeylerde sınırlı kalması veya tüm vücuda yayılması mümkündür. İdrar yolu enfeksiyonları, ishal, yenidoğan menenjit, sepsis, karın içi enfeksiyonlar, akciğer enfeksiyonları ve yara yeri enfeksiyonları *E. coli*'nin neden olduğu başlıca hastalıklardır (Erdem, 1999; Murray ve diğ., 2010) ve *E. coli*'ler gerek toplum gerekse hastane kaynaklı enfeksiyon etkenleri arasında genellikle ilk sırayı almaktadır (Koneman ve diğ., 2006; Murray ve diğ., 2010).

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarında en sık izole edilen patojen *E. coli*'lerin neden olduğu enfeksiyonlar bağırsak ve bağırsak dışı olarak iki kategoriye ayrılır. Bağırsak enfeksiyonlarında kontamine su ve besinlerin fekal-oral yolla bulaşı söz konusudur. Bağırsak dışı enfeksiyonlarda bulaş kaynağı hastanın kendi florası olabildiği gibi nozokomiyal de olabilir (Harvey ve Champe, 2006).

#### **2.1.3.1. Bağırsak Enfeksiyonları**

Genellikle bağırsak hücrelerine tutunarak ishale yol açan enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), enteroagregatif *E. coli* (EAEC), enterohemorajik *E. coli* (EHEC) farklı mekanizmalar kullanarak hastalığa neden olurlar (CDC, 2012). Ayrıca patojenitesi kesin olarak gösterilememiş olmakla birlikte difüz aderan *E. coli* (DAEC)'nin sulu diyare ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Murray ve diğ., 2007). Bağırsak enfeksiyonuna neden olan *E. coli*'lerin etki bölgesi, patogeneiz mekanizması ve klinik sendromları Tablo 1'de yer almaktadır (Murray ve diğ., 2007; CDC, 2013).

**Tablo 2.1.** Bağırsak enfeksiyon etkeni *E. coli*'ler ve özellikleri.

| Patotipler                             | Etki bölgesi   | Patogenez mekanizması                                                                  | Hastalık                                                                                      |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| Enterotoksijenik <i>E. coli</i> (EPEC) | İnce bağırsak  | Isıya dayanıklı/dayanıklı enterotoksin üretimi                                         | Turist diyaresi, gelişmiş ülkelerde infant diyaresi, sulu diyare, kusma, kramp, bulantı, ateş |
| Enteropatogenik <i>E. coli</i> (EPEC)  | İnce bağırsak  | İnce bağırsağa tutunma ve intimin aracılığı ile epitel hücrelerin yok edilmesi         | Gelişmemiş ülkelerde infant diyaresi, sulu diyare, ateşsiz, bazen ağrılı                      |
| Enteroagregatif <i>E. coli</i> (EAEC)  | İnce bağırsak  | İnce bağırsağa tutunma, enterotoksin ve sitotoksin üretimi                             | Gelişmemiş ülkelerde infant diyaresi, sulu diyare, kanlı diyare, kusma, dehidrasyon, ateş     |
| Enterohemorajik <i>E. coli</i> (EHEC)  | Kalın bağırsak | Kalın bağırsağa tutunma (çoğunlukla intimin aracılığıyla), Shiga toksin 1 ve 2 üretimi | Kanlı diyareye sebep olabilen sulu diyare, abdominal hassaslık, ateş/ateşsiz                  |
| Enteroinvaziv <i>E. coli</i> (EIEC)    | Kalın bağırsak | Mukozal invazyon ve kalın bağırsakta inflamasyon                                       | Gelişmekte olan ülkelerde görülür, ateş, sulu diyare, kramplar, dizanteriye dönüşebilir       |
| Difüz adheran <i>E. coli</i> (DAEC)    | İnce bağırsak  | Epitel hücrelerine yaygın tutunma                                                      | Patojenitesi net olarak gösterilememiş/sulu diyare ile ilişkili olduğu düşünülmekte           |

### 2.1.3.2. Bağırsak Dışı Enfeksiyonları

#### 2.1.3.2.1. İdrar Yolu Enfeksiyonları (İYE)

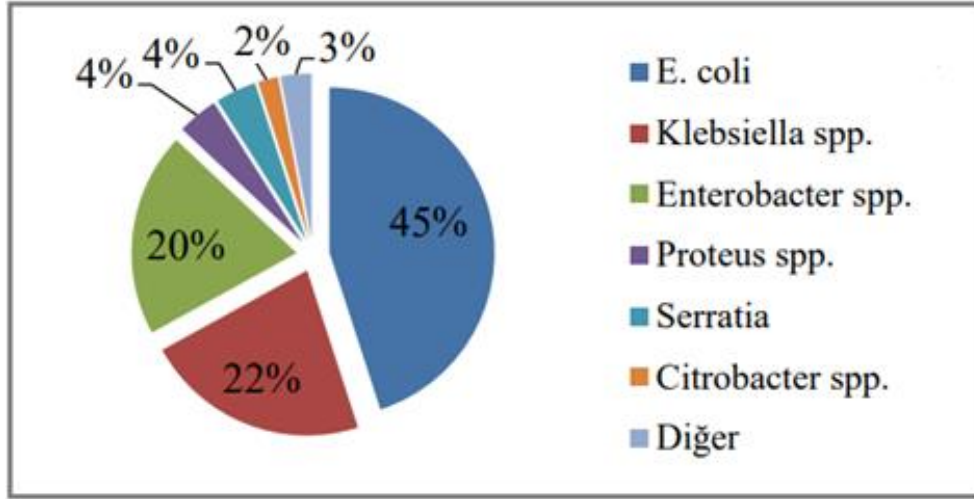
Üropatojenik *E. coli* suşlarının (UPEC) neden olduğu İYE dünya genelinde en sık rastlanan barsak dışı enfeksiyonlardan biridir. Önce üriner sistemin mukozal hücrelerine tutunarak kolonize olan üropatojenik *E. coli* suşları daha sonra invazyonla asemptomatik bakteriüri, akut semptomatik ve tekrarlayan sistit, piyelonefrit, kolesistit ve kolanjit gibi hastalık

tabloları oluştururlar (Fındık, 2008; Murray ve diğ., 2010). *E. coli*'nin toplum kaynaklı İYE'lerin %64,5-82'sinden ve hastane kaynaklı İYE'lerin %50'sinden sorumlu olduğu bildirilmektedir (Mathai ve diğ., 2001; Huang ve diğ., 2014).

Toplum kökenli İYE'de genellikle idrar akışını zorlaştıran etmenler (idrar kesesi ve böbrekte taş, üreter darlık ve gebelik gibi) enfeksiyona zemin hazırlar. *E. coli*'nin idrar yollarına bulaşması asendan, hematojen ve lenfojen olmak üzere üç yol ile gerçekteşebilir. Asendan yol özellikle kadınlarda görülür ve önce üretrit sonra sistit gelişebilir ve enfeksiyon yukarı doğru ilerledikçe, böbrekte piyelonefrit ve ciddi doku hasarına neden olabilir ve ayrıca piyelonefrit sonrası ürosepsis riski de vardır (McNally ve diğ., 2013). Hematojen yol ise sıklıkla yenidoğanlarda görülür. Lenfojen bulaş ise kalın barsak lenf dolaşımı ile idrar kesesi lenf dolaşımı arasındaki ilişkiden kaynaklanır. Hastane kaynaklı İYE ise sıklıkla kateterizasyon veya diğeri idrar yolu müdahalelerini takiben gelişir ve mortalite riski yüksek olan ürosepsiye neden olabilir (Öngen, 2008).

#### **2.1.3.2.2. Bakteriyemi (Sepsis)**

Bakteriyemi ölüme sebep olabilen sistemik bir enfeksiyondur ve dünyada her yıl 13 milyon kişide sepsis gelişmekte ve bunların yaklaşık 4 milyonu ölümcül seyretmektedir (Lever ve Mackenzie 2007; Pradipta ve diğ., 2013). Bakteriyemi, genellikle idrar yolu veya gastrointestinal sistem enfeksiyonu ilişkilidir. Bakteriyemiye neden olan suşlar genellikle serum ve komplemanın bakterisidal etkisine direnç gösteren suşlardır. *E.coli* bakteriyemisinde de sistemik reaksiyon bakteri hücre duvarı lipopolisakkaritinin toksik olan lipid A kısmına karşı gelişir (Erdem, 1999). *E. coli*'nin gram-negatif bakteri septisemilerinde en sık rastlanan etken olduğu bildirilmektedir (Sevim ve diğ., 2007; Mehli ve diğ., 2007; Shanthachol ve diğ., 2012; Laupland, 2013). *Enterobacteriaceae* ailesine mensup bakterilerin bakteriyemiye neden olma sıklığı Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



**Şekil 2.1.** Bakteriyemi ile ilişkili *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerinin görülme sıklığı (Murray ve diğ., 2010).

#### 2.1.3.2.3. Yenidoğan Menenjit

Yenidoğanlarda ve küçük çocuklarda görülen “Yenidoğan menenjit” dünya genelinde mortalite ve morbiditeye neden olmaya devam eden, ölüm oranı yüksek (%40-80) olan ve sekel bırakabilen bir hastalıktır (Erdem 1999, Kaper ve diğ., 2004; Öngen 2008). Hamile kadınların vajeninde kolonize olan bakteriler amniyotik membran yırtılması nedeniyle gebelik döneminde veya doğum sırasında bebeğe bulaşabilir. *E. coli*, B grubu streptokoklardan sonra en sık rastlanan menenjit etkenidir ve patogenezinde bakteriyi fagositoza ve serumun bakterisidal etkisine dirençli hale getiren K1 kapsül antijeninin rolü vardır (Erdem 1999; Eisenstein ve Zaleznik, 2000; Murray ve diğ., 2010).

#### 2.1.3.2.4. Solunum Yolu Enfeksiyonu

Genellikle üst solunum yollarında kolonize olmuş *E. coli*'nin akciğerlere ulaşımı pnömoniye neden olmaktadır. Bulaş hematojen yolla da gerçekleşebilir. Hastane kaynaklı pnömonilerin %12-50'sinde etken olarak *E. coli* izole edilmektedir. Toplum kaynaklı pnömoniler diyabet, kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi direnci düşük olan ve özellikle 50 yaş üzeri kişilerde daha çok alt lobları tutan bronkopnömoni şeklinde görülür. Bu kişilerde ampiyem ve hatta bakteriyemi de gelişebilir (Erdem 1999, Öngen 2008).

#### 2.1.4. Korunma ve Tedavi

Bağırsak florasında bulunması nedeniyle *E. coli*'den korunma zor olduğu gibi enfeksiyonlarına karşı bağışıklık kazanılması da söz konusu değildir. *E. coli* kaynaklı bağırsak enfeksiyonlarından korunmak için besin ve suların tüketiminde ve günlük hayatta hijyen ve sanitasyon kurallarına dikkat edilmelidir (Erdem, 1999; Brooks ve ark., 2010).

Bağırsak enfeksiyonlarında ilk önce kaybedilen sıvı ve elektrolitin yerine konması gereklidir. Bağırsak enfeksiyonlarında antibiyotik tedavisi *E. coli* tipine göre değişkenlik gösterir (Erdem, 1999; Brooks ve ark., 2010). Uygun antibiyotik tedavisi ile ETEC enfeksiyonunun şiddeti ve süresi azalırken ekstraintestinal komplikasyonların önlenmesi sağlanır. Antibiyotik tedavisi EPEC kaynaklı ishallerde etkili olabilir ancak salgınlarla ilişkili çoğu EPEC suşunun çoklu antibiyotik direnç taşıması tedaviyi sınırlandırmaktadır. Çoğu antibiyotiğe karşı dirençli olan EAEC suşları tipik olarak florokinolonlara duyarlıdır. Klinik çalışmalarda EAEC kaynaklı ishalin turistlerde siprofloksasin ile tedavi edilebildiği gösterilmiştir. EIEC veya diğer putatif diyarejenik *E. coli* suşlarında antimikrobiyal tedavinin etkinliği ve direnç prevalansı hakkında çok az bilgi mevcuttur (Murray ve diğ., 2007). EHEC tedavisinde antibiyotik tedavisinin yararlı olduğuna dair kanıt yoktur ve antibiyotik kullanımı hayatı tehdit edici “hemolitik üremik sendrom” gelişme riskini arttırabilmektedir (CDC, 2012).

Bağırsak dışı *E. coli* enfeksiyonlarının tedavisinde *Enterobacteriaceae* ailesine etkili olan betalaktam, kinolon ve aminoglikozid türevleri, fosfomisin, trimetoprim/sülfametoksazol ve nitrofurantoin antibiyotikleri kullanılır. Özellikle hastane enfeksiyonlarının antibiyotik tedavisi için in vitro duyarlılık test sonuçlarına ihtiyaç vardır. Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından *Enterobacteriaceae* üyelerine etkili olan antimikrobiyallerin tedavide kullanımını düzenlemek için dört gruptan oluşan bir sınıflandırma yapılmıştır. Tablo 2.2' de verilen bu sınıflandırmaya göre, tedavide ilk seçenek Grup A antimikrobiyalleridir ve bunlara karşı direnç saptanırsa tedavide Grup B'deki antimikrobiyaller kullanılır. Bu grup antimikrobiyallerine de direnç saptanırsa, tedavi için Grup C'deki antimikrobiyaller seçenekleri olabilir. Grup U antimikrobiyaller sadece idrar yolu enfeksiyonlarında kullanılmaktadır (CLSI, 2013).

**Tablo 2.2.** *Enterobacteriaceae* tedavisinde kullanılan antimikrobiyal grupları (CLSI, 2013).

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

\* *Klebsiella* suşlarında intrensek direnç nedeniyle ampisilin kullanılmaz.

## 2.2. Antibiyotikler

Mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan antibiyotikler bakteriler üzerinde öldürücü (bakterisidal) veya büyümeyi engelleyen (bakteriyostatik) etkiye sahip ilaçlardır. Antibiyotiklerin bir kısmı doğal bir kısmı ise sentetik olarak elde edilmektedir. Penisilin, sefalosporinler ve makrolidler bazı bakteri ve mantarlar tarafından diğer bakterilerin yok edilmesi için biyolojik olarak sentezlenen doğal

antibiyotiklere örnektir. Sülfonamidler, kinolonlar, imidazoller ise sentetik olarak üretilen antibiyotiklerdir (Saran ve Karahan, 2010; Saygı ve diğ., 2012; Levinson, 2018a).

Antibiyotikler, mikroorganizmalar üzerinde gösterdikleri etki mekanizmalarına göre beş farklı gruba ayrılırlar.

**1. Hücre duvarı sentezini inhibe eden antibiyotikler:** Beta laktamlar (penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonları), glikopeptitler (vankomisin, teikoplanin) ve diğerleri (fosfomisin, sikloserin, basitrasin, ristosetin, ramoplanin, mersasidin, moenomisin).

**2. Protein sentezini inhibe eden antibiyotikler:** 50S ribozomal alt üniteye bağlananlar (makrolidler, linkozamidler, streptograminler, kloramfenikol, oksazolidinonlar), 30S ribozomal alt üniteye bağlananlar (aminoglikozidler, tetrasiklinler, glisilsiklinler) ve diğerleri (mupirosin, nitrofurantoin).

**3. Nükleik asit sentezini inhibe eden antibiyotikler:** (kinolonlar, rifampisinler, metronidazol).

**4. Metabolit sentezini inhibe eden (antimetabolit) antibiyotikler:** (trimetoprim-sülfametoksazol, paraamino salisilik asit)

**5. Hücre membran bütünlüğünü bozan antibiyotikler:** Peptid antibiyotikler [polipeptit antibiyotikler (basitrasin, gramisidin S, polimiksinler), lineer katyonik peptitler (defensinler, maganinler), ribozomal peptitler (lantibiyotikler), diğerleri (pirokorisin, drododoin, apiadesin)] ve siklik lipopeptitler (daptomisin).

### 2.2.1. Antibiyotik Direnci

Mikroorganizmaların enfeksiyon tedavisinde kullanılan antimikrobiyal ilaçlara karşı zaman içerisinde duyarsız hale gelmesidir. İster doğal isterse sentetik olsun bilinçli ve yeterli antibiyotik kullanımı ile bulaşıcı hastalıkların kontrol altına alınması ve ölümlerin azaltılması sağlanırken, antibiyotiklerin tedavide yanlış ve gereksiz kullanımı, yetersiz enfeksiyon kontrolü ve çevre gibi faktörler bakterilerde antimikrobiyal direncin ortaya çıkmasına yol açmıştır. Ayrıca birinci basamak sağlık hizmetlerinde özellikle geniş

spektrumlu antibiyotiklerin aşırı kullanımı ve ampirik tedaviler ilaçların etkinliğinin azalmasına, dirençli bakterilerin prevalansının artmasına ve yeni enfeksiyonların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bazı bakterilerin mevcut antibiyotiklerin birkaçına birden direnç kazanması (çoklu ilaç direnci), yeni antibiyotik buluşlarının az oluşu, üretimlerinin uzun süreçler gerektirmesi ve yeni ilaçlara her zaman ulaşılabilmesi yanı sıra hasta güvenliği ve maliyet gibi sorunlar da klinik açıdan önemli problemlerdir (Öztürk, 2008; Akalın, 2011; Choi ve diğ., 2012).

Son yıllarda, sadece hastane kaynaklı değil, toplum kaynaklı enfeksiyonlara da yol açan çoklu ilaç direnci taşıyan gram-negatif enterik bakteriler de halk sağlığı açısından tehdit edici boyutlara ulaşmıştır (Aslam ve diğ., 2018). Aminoglikozitler,  $\beta$ -laktam antibiyotikler, sefalosporinler ve florokinolonlar *E. coli* enfeksiyonlarının tedavisinde en sık kullanılan antibiyotiklerdir ve bu grup antibiyotiklere karşı direncin hızla arttığı bildirilmektedir (Tadesse ve diğ., 2012).

### **2.2.2. Direnç Tipleri**

Direnç, mikroorganizmaların antibiyotiklerin öldürücü veya büyümeyi engelleyici etkilerinden korunabilmesini sağlar ve doğal direnç, çevresel şartlara bağlı direnç ve kazanılmış direnç olmak üzere üç farklı tiptedir.

#### **2.2.2.1. Doğal direnç**

Bazı bakterilerin yapısal olarak antibiyotiklerin etkili olabileceği hedef molekülleri taşımamasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle kullanılan antibiyotiğe karşı doğal dirençli olan bakteri o antibiyotikten etkilenmez. Örneğin, Mycoplasma ve Ureaplasma gibi hücre duvarı taşımayan bakteriler hücre duvarına etkili olan beta-laktam grubu antibiyotiklere karşı doğal dirençlidir (Tenover, 1996; Öztürk, 2002; Harbottle ve diğ., 2006; Reygaert, 2018; Levinson, 2018b).

#### **2.2.2.2. Çevresel şartlara bağlı direnç**

Kullanılan antibiyotiğin, dokulardaki pH ve oksijen basıncı değişiklikleri veya enfeksiyon bölgesine ulaşamaması gibi nedenlerle in vivo olarak etkisiz kalmasından kaynaklanır. Örneğin, sefalekssin ve sefadroksil gibi 1. kuşak sefalosporinler bakteriye karşı etkili olsalar

da kan-beyin bariyerini geçemedikleri için bakteriyal menenjit tedavisinde kullanılamamaktadır. Ayrıca bakterilerin üreme dönemi dışındaki evrede genellikle penisilinler ve sefalosporinler gibi hücre duvarı inhibitörlerine karşı duyarsız olması bu tipte bir dirençtir (Öztürk, 2002; Harbottle ve diğ., 2006; Reygaert, 2018; Levinson, 2018b).

**2.2.2.3. Kazanılmış direnç:** Bakterilerin daha önce duyarlı olduğu bir antibiyotiğe karşı dirençli hale gelmesine neden olan bu direnç, bakteriyal kromozomda meydana gelen mutasyonla veya direnç geni taşıyan plazmit veya transpozon DNA'larının diğer bakterilerden konjugasyon veya transdüksiyon yoluyla kazanımı sonucu genetik bir değişime bağlı olarak gelişir (Öztürk, 2002; Harbottle ve diğ., 2006; Reygaert, 2018; Levinson, 2018b). Kazanılmış direnç üç alt gruba ayrılır.

**1. Kromozom aracılı kazanılmış direnç:** Bilinçsiz antibiyotik kullanımı yanı sıra UV, çeşitli kimyasallar ve açlık gibi stres faktörlerinin, özellikle ilaç hedefini, hücreye ilaç alımını kontrol eden membran transport sistemini ve ilacı modifiye edici enzimi kodlayan genlerde meydana getirdiği mutasyonlar direnç gelişimine neden olabilir. Direnç, *E.coli*'de rifampisine karşı direnç gelişiminde olduğu gibi hızlı (antibiyotikle bir veya birkaç temas sonrasında) ve yüksek seviyede gelişebilir veya penisilin ve tetrasikline karşı direnç gelişiminde olduğu gibi yavaş ve giderek artan şekilde gelişebilir. Spontan mutasyon sıklığı düşük olduğundan ve kromozomal direnç diğer bakterilere aktarılmadığından plazmit aracılı dirence göre daha seyrek görülür (Öztürk 2002; Harbottle ve diğ., 2006; Reygaert, 2018; Levinson, 2018b).

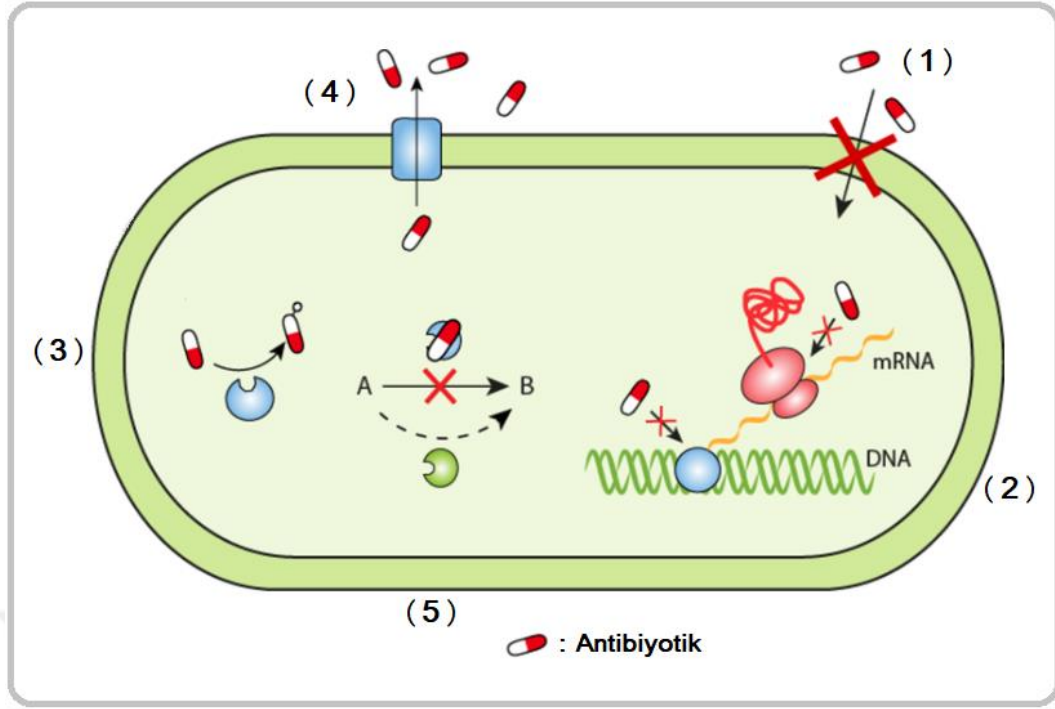
**2. Plazmit aracılı kazanılmış direnç:** Plazmidler kromozomdan bağımsız replike olan, kromozom dışı genetik elemanlardır. Direnç plazmitleri (R plazmitleri) ise antibiyotikleri parçalayabilen ve hücrenin membran geçirgenliğini değiştirebilen enzimleri kodlayan genler yanı sıra sıklıkla birden fazla antibiyotiğe direnç geni taşımaları ve konjugasyon oluyla farklı bakteri türleri arasında aktarım oranlarının yüksek oluşu nedeniyle klinik açıdan çok önemlidirler. Plazmitlerdeki direnç genleri transpozon ve integron gibi mobil genetik elemanlar üzerinde de bulunabilir (Öztürk 2002; Harbottle ve diğ., 2006; Reygaert, 2018; Levinson, 2018b).

**3. Transpozon aracılı kazanılmış direnç:** Transpozonlar kromozom ve plazmitlerden farklı olarak bağımsız replike olamayan, kromozom veya plazmit DNA

dizileri içinde bulunan, küçük ve mobil genetik elemanlardır. Bu nedenle kromozomun içinde yer değiştirebilen ve kromozom ile plazmitler arasında göç edebilen transpozonların bir bakteriden diğerine aktarılması ise genellikle plazmitler aracılığı ile gerçekleşmektedir. Bir antibiyotik direnç transpozonu tipik olarak, transpozona ait DNA'nın kesilip çıkarılması ve göç ettiği yere yerleşmesini sağlayan transpozaz enzimini kodlayan gen ve bu enzimin sentezini düzenleyen repressörü kodlayan gen ve bir antibiyotik direnç geni olmak üzere üç gen taşımaktadır (Öztürk, 2002; Harbottle ve diğ., 2006; Bönemann ve diğ., 2006; Levinson, 2018b).

### **2.2.3. Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları**

Bakterilerin kullanılan antibiyotiklere karşı duyarsız hale gelmelerini sağlayan direnç gelişimi Şekil 2.2'de verildiği gibi beş farklı mekanizma ile gerçekleşmektedir. Bakteriler, **1.** İlacın hücreye alımının sınırlandırılması için hücre zarı geçirgenliğini azaltabilir (örn., mutasyonla dış membran porinlerindeki değişiklikler hücreye penisilin girişini kısıtlayıcı etki gösterir), **2.** İlacın hücredeki hedef molekülünde değişiklik yaparak ilacı etkisiz hale getirebilir (örn., RNA polimerazda meydana gelen nokta mutasyonu rifamisin direncine ve 30S ribozomal alt birimini oluşturan mutant protein ise streptomisin direncine neden olur), **3.** İlacın inaktivasyonunu/modifikasyonunu sağlayan enzimler üretebilir (örn., beta laktamaz enzimi ile beta laktamlar, esteraz enzimi ile eritromisin ve fosforilaz, asetilaz ve adenilaz enzimleri ile aminoglikozitler etkisiz hale getirilir), **4.** İlacın aktif dışa atım (efflux) pompa sistemi ile hücre dışına atılmasını sağlayarak hücre içindeki miktarını azaltabilir (örn., asıl görevi besinlerin ve iyonların hücreye alınmasını, metabolik son ürünlerin ve zararlı maddelerin hücre dışına atılmasını düzenleyen dışa atım proteinleri birçok antibiyotiği hücre dışına atarak yüksek düzey ve çoklu ilaç direnci oluşturur) ve **5.** İlacın etkileyemeyeceği alternatif metabolik yollar kullanabilir (örn., ortamdan hazır folat almak suretiyle folat sentezini inhibe eden antibiyotiği etkisiz hale getirir) (Öztürk, 2002; Harbottle ve diğ., 2006; Bönemann ve diğ., 2006; Coyne ve diğ., 2011; Levinson, 2018b).



**Şekil 2.2.** Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç mekanizmalarının şeması (URL-1). (1): İlacın hücreye alınımının sınırlandırılması, (2): İlacın hücredeki hedef molekülünde değişiklik ile ilacın etkisizleştirilmesi, (3): İlacın inaktivasyon/modifikasyon ile etkisizleştirilmesi, (4): İlacın aktif dışa atım pompası ile hücre dışına atılması, (5): İlacın etkileyemeyeceği alternatif metabolik yol kullanımı.

### 2.3. Kinolonlar

Bakteriyal enfeksiyonların tedavisinde sıklıkla kullanılan kinolonlar, DNA sentezini inhibe ederek bakterisidal etki gösteren ve sentetik olarak üretilen bir antibiyotik grubudur. Birinci kuşak kinolonların ilk üyesi nalidiksik asittir ve 1962 yılında antimalaryal ilaç olan klorokin'in saflaştırılması sırasında keşfedilen bir ara ürün molekülüdür. Sadece aerop gram-negatif bakterilere etkili olduğu ve idrarda yüksek yoğunluklara ulaşabildiği için tedavide kullanımı idrar yolu enfeksiyonları ile sınırlı kalan nalidiksik asitten sonra günümüze kadar çok sayıda kinolon türevi geliştirilmiştir (Leblebicioğlu, 2002; Günal ve Erdem, 2014). 1970'li yıllardan itibaren geliştirilen birinci kuşak kinolon türevleri (oksolinik asit, sinoksasin, flumequin) aerop gram-negatif bakterilere karşı oldukça etkili olmasına rağmen gram-pozitif aerop bakterilere ve anaerop bakterilere karşı etkili değildirler ve yalnızca gram-negatif kaynaklı üriner enfeksiyonlarda kullanılırlar. 1980'lerden sonra moleküle bir flor eklenmesiyle elde edilen ve florokinolonlar olarak adlandırılan geniş etki spektrumlu ve yaygın kullanım alanına sahip ikinci kuşak kinolonlar (norfloksasin,

siprofloksasin ve ofloksasin) kullanıma girmiştir. İkinci kuşak kinolonlardan enoksasin, fleroksasin, lomefloksasin ve pefloksasin yaygın kullanıma sahip değildir. 1990'lı yıllarda geliştirilen üçüncü kuşak kinolonlar (levofloksasin, grepafloksasin, gatifloksasin, sparfloksasin, temafloksasin, tosufloksasin, ve pazufloksasin) daha geniş etki spektrumuna sahip olmalarına rağmen, yan etkileri nedeniyle bunların büyük bir kısmı da klinik kullanıma girmeden veya girdikten bir süre sonra kullanımdan kaldırılmışlardır. Bu gruptan sadece levofloksasin halen sorunsuz ve yaygın olarak kullanılmaktadır. 2000'lerde piyasaya çıkan trovafloksasin, klinafloksasin, sitafloksasin, moksifloksasin ve gemifloksasin dördüncü kuşak kinolonlardandır. Çok güçlü antianaerop etkinliğe sahiptirler ancak günümüzde bunlardan moksifloksasin ve gemifloksasin kullanılmaktadır çünkü diğerleri yan etkileri nedeniyle kullanımdan kaldırılmışlardır. (Leblebicioğlu, 2002; Oliphant ve Green, 2002; Ulusoy, 2003; Andriole, 2005; Moellering, 2005). Beşinci kuşak üyesi olarak anılan bazı kinolonların (Örn., Garenoksasin) faz çalışmaları (Tanigawara ve diğ., 2016) yanı sıra yeni kinolon türevlerinin sentezi üzerinde çalışmalar halen devam etmektedir (Rusu ve diğ., 2021). Kinolon grubu antibiyotiklerin mikrobiyolojik etkinlikleri ve kullanıldıkları enfeksiyonlar Tablo 2.3'te özetlenmektedir.

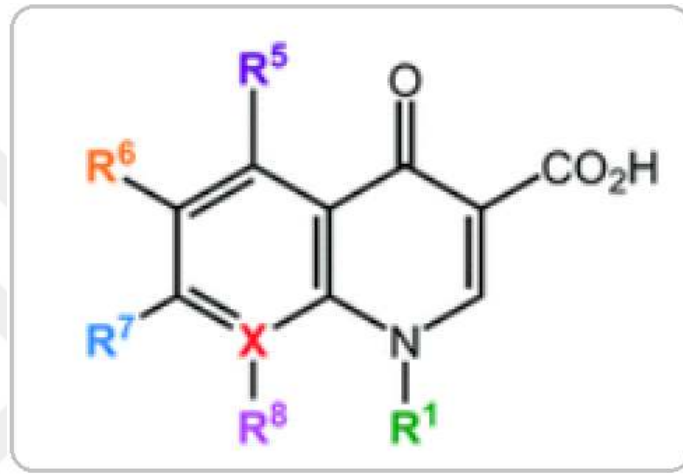
**Tablo 2.3.** Kinolonlar, mikrobiyolojik etkinlikleri ve klinikte kullanımları (Leblebicioğlu, 2002; Topçu ve Koç, 2008).

|                                | 1. Kuşak                      | 2. Kuşak                      |                                 | 3. Kuşak                        | 4. Kuşak                        |                                 | 5. Kuşak     |
|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------|
|                                |                               | Alt grup 1                    | Alt grup 2                      |                                 | Alt grup 1                      | Alt grup 2                      |              |
| <b>Kinolonlar</b>              | Nalidiksik asid               | Norfloksasin                  | Siprofloksasin                  | Levofloksasin                   | Moksifloksasin                  | Gemifloksasin                   | Garenoksasin |
|                                | Oksolinik asid                | Lomefloksasin                 | Ofloksasin                      | Sparfloksasin*                  | Gatifloksasin*                  |                                 |              |
|                                | Sinoksasin                    | Enoksasin                     | Pefloksasin                     | Grepafloksasin*                 | Sitafloksasin                   |                                 |              |
|                                | Flumequin                     |                               | Fleroksasin                     | Temafloksasin*                  | Klinofloksasin*                 |                                 |              |
| <b>Mikrobiyolojik Etkinlik</b> | <i>Enterobacteriaceae</i>     | <i>Enterobacteriaceae</i>     | <i>Enterobacteriaceae</i>       | <i>Enterobacteriaceae</i>       | <i>Enterobacteriaceae</i>       | <i>Enterobacteriaceae</i>       |              |
|                                |                               | <i>P. aeruginosa</i>          | <i>P. aeruginosa</i>            | <i>P. aeruginosa</i>            | <i>P. aeruginosa</i>            | <i>P. aeruginosa</i>            |              |
|                                |                               |                               | Atipikler                       | Atipikler                       | Atipikler                       | Atipikler                       |              |
|                                |                               |                               |                                 | MSSA                            | MSSA                            | MSSA                            |              |
|                                |                               |                               |                                 | Streptokoklar                   | Streptokoklar                   | Streptokoklar                   |              |
|                                |                               |                               |                                 |                                 | Anaeoroplalar                   | Anaeoroplalar                   |              |
| <b>Tedavi</b>                  | Yalnızca Üriner Enfeksiyonlar | Yalnızca Üriner Enfeksiyonlar | Sistemik + Üriner Enfeksiyonlar | Sistemik + Üriner Enfeksiyonlar | Sistemik + Üriner Enfeksiyonlar | Sistemik + Üriner Enfeksiyonlar |              |

\*: Yan etkileri nedeniyle kullanılmamaktadır. MSSA: Metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus*.

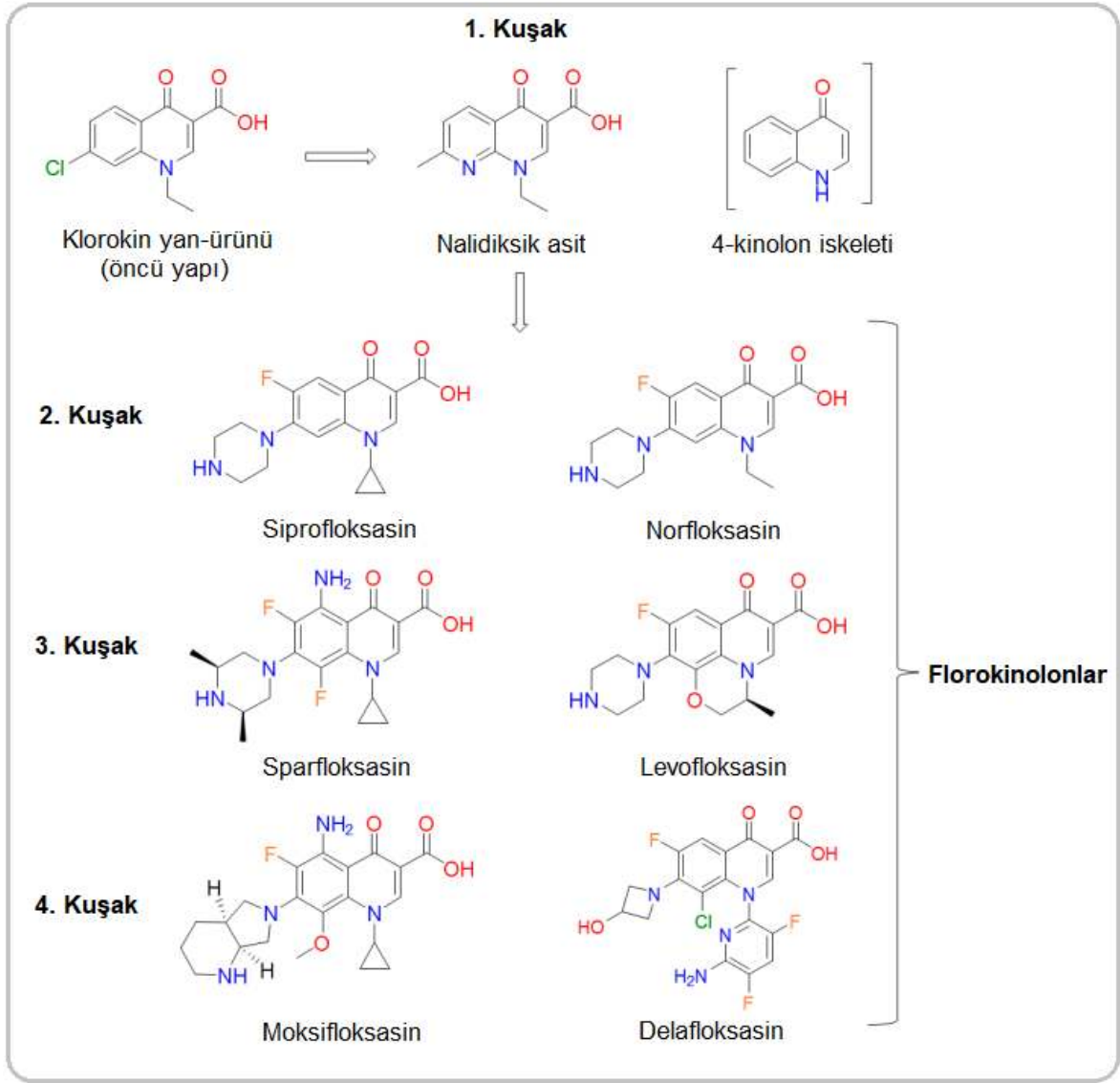
### 2.3.1. Kinolonların Kimyasal Yapısı

Sentetik olarak üretilen kinolonların ana yapısı Şekil 2.3'te görüldüğü gibi iki halkalı bir çekirdekten oluşur (Pham ve diğ., 2019). Kinolon grubu antibiyotikler arasındaki antibakteriyel aktivite, farmakolojik hedefleri, farmakokinetiği ve yan etki profillerindeki değişimler, ana yapının N-1, C-5, C-6, C-7 ve C-8 pozisyonlarının modifiye edilmesi ile oluşan farklılıklardan kaynaklanmaktadır (Leblebicioğlu, 2002).



**Şekil 2.3.** Kinolonların çekirdek yapısı. X= C ise bir kinolon molekülüdür (siprofloksasin, norfloksasin, levofloksasin), X= N ise bir naftiridon molekülüdür (nalidiksik asit, enoksasin, tosufloksasin, trovafloksasin, gemifloksasin). R1, R5, R6, R7, R8 ve X: ilacın aktivitesini etkileyen önemli modifikasyon pozisyonlarıdır (Pham ve diğ., 2019).

İlk florokinolon olan norfloksasin, kinolon molekülünün 6 numaralı karbonuna bir flor atomu eklenerek elde edilmiştir. Sonraki çalışmalar ile norfloksasinin 7 numaralı karbonuna piperazinil (örn. siprofloksasin, enoksasin), metil piperazinil (örn. ofloksasin, levofloksasin), dimetil piperazinil (örn. sparfloksasin) eklenmesiyle gram-negatif bakterilere karşı etkili olan, yine 7 numaralı karbonuna pirolidinil (örn. klinafloksasin, gemifloksasin) ya da ikili halka (örn. moksifloksasin) eklenmesiyle gram-pozitif bakterilere karşı da etkili olan ve 8 numaralı karbonuna halid ya da metoksi grubu (örn. moksifloksasin, gatifloksasin) eklenmesiyle anaerob bakterilere karşı etkili olan yeni florokinolonlar türetilerek kinolonların etki spektrumu bir hayli genişletilmiştir (Nazik ve Öngen, 2010; Günel ve Erdem, 2014).



**Şekil 2.4.** Kinolonların gelişimi ve bazı önemli florokinolonların kimyasal yapısı (Bush ve diğ., 2020).

### 2.3.2. Kinolonların Etki Mekanizması

Kinolon grubu antibiyotikler, DNA sentezini inhibe etmek suretiyle bakterisidal etki gösteren ajanlardır. Kinolonların, hedef molekülleri olan DNA giraz ve topoizomeraz IV enzimlerine bağlanarak topoizomerizasyon aktivitelerini engellemesi DNA sentezini inhibe eder ve bu durum bakterinin ölümüne yol açar. Ayrıca, kinolonlar çok yüksek konsantrasyonlarda RNA ve protein sentezini engelleyerek bakteriyostatik etki de gösterebilmektedirler (Jacoby, 2005; Topçu ve diğ., 2008; Hooper ve Strahilevitz, 2010; Günel ve Erdem, 2014; Azargun ve diğ., 2020).

DNA'nın sentezinde önemli rolü olan DNA giraz ve topoizomeraz IV enzimleri tip II grubu topoizomerazlardır ve ikisi de bir DNA segmentinin her iki ipliğini birden keserek iplikleri birbiri üzerinde atlattıktan sonra kesik kısımları onaran enzimlerdir. DNA giraz enzimi bu işlemi, hem DNA'nın boyunu küçülterek hücre içine sığmasını sağlayan negatif süper kıvrımları oluşturmak için hem de DNA replikasyonu sırasında replikasyon çatalının önündeki süper kıvrımları kaldırarak DNA ipliklerinin düğümlenmeden birbirinden ayrılmasını sağlamak için uygular. Topoizomeraz IV enzimi ise bu işlemi, replikasyonun sonunda birbiri içinden geçmiş olan iki halka (katener) halindeki DNA ipliklerinin birbirinden ayrılması için uygulayarak hücre bölünmesi sırasında DNA'ların yavru hücrelere eşit olarak dağılmasını sağlar (Jacoby, 2005; Topçu ve diğ., 2008; Hooper ve Strahilevitz, 2010; Reygaert, 2018; Levinson, W., 2018a).

Kinolonlar ise replikasyon sırasında ve sonrasında oluşan topoizomeraz-DNA kompleksinin kesme-bağlama fonksiyonunu gerçekleştiren aktif bölgesine bağlanarak bir kinolon-enzim-DNA kırığı kompleksi oluşmasına neden olurlar. Kesik DNA ipliklerinin topoizomeraz enzimi tarafından yeniden bağlanmasını önleyen bu yapı, bakteriyel DNA'da onarılması mümkün olmayan kırıklara yol açtığı ve ayrıca replikasyon sırasında bir bariyer oluşturduğu için DNA helikaz ve DNA polimeraz enzimlerinin faaliyetlerini de inhibe ettiğinden bakterinin ölümüne neden olur (Jacoby, 2005; Hooper ve Strahilevitz, 2010; Aldred ve diğ., 2014; Azargun ve diğ., 2020).

DNA giraz ve topoizomeraz IV enzimleri heterotetramerik ( $A_2B_2$ ) yapıya sahiptir. Gram-pozitif ve negatif türlerde, DNA giraz enzimi iki GyrA ve iki GyrB alt birimlerinden oluşmaktadır ve kromozomda sırasıyla *gryA* ve *gryB* genleriyle kodlanırlar. Gram-negatiflerde topoizomeraz IV iki ParC ve iki ParE alt birimlerinden oluşur ve kromozomda sırasıyla *parC* ve *parE* genleriyle kodlanırlar. Gram-pozitif bakterilerde ise topoizomeraz IV'ün alt birimleri GrlA ve GrlB olarak adlandırılır ve kromozomda sırasıyla *grlA* ve *grlB* genleriyle kodlanırlar. DNA giraz ve topoizomeraz IV yapısal ve işlevsel açıdan birbirine benzeyen (homolog) enzimlerdir çünkü GyrA ve ParC (gram-pozitiflerde GyrA ve GrlA) alt birimleri DNA'yı keserken, GyrB ve ParE (gram-pozitiflerde GyrB ve GrlB) alt birimleri bu reaksiyon için enerji sağlar (Peterson, 2001; Topçu ve diğ., 2008; Hooper ve Strahilevitz, 2010; Aldred ve diğ., 2014; Azargun ve diğ., 2020).

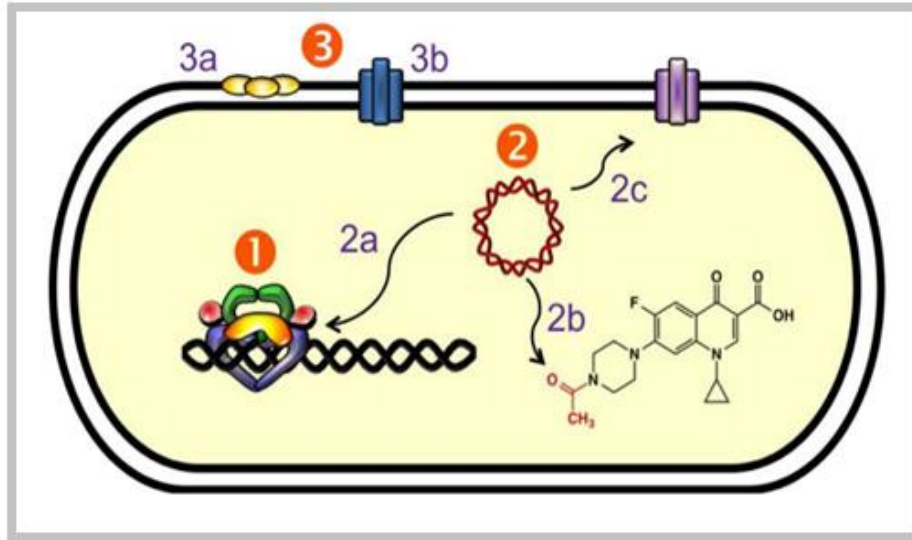
DNA giraz ve topoizomeraz IV enzimlerinin ikisine de bağlanabilen florokinolonların öncelikli hedefleri gram-pozitif ve negatif bakterilerde farklılık gösterir. Eski kuşak florokinolonların ilk hedefi, *E. coli*'de olduğu gibi gram-negatif bakterilerde DNA giraz iken,

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)’ta olduğu gibi gram-pozitif bakterilerde topoizomeraz IV enzimidir. Öte yandan, 8 nolu karbonunda metoksi grubu taşıyan yeni kuşak florokinolonların birincil hedefinin gram-pozitif bakterilerde de DNA giraz olduğu bildirilmektedir. Kinolonların insan hücrelerinde de mevcut olan topoizomeraz enzimlerine etkileri minimal düzeydedir. (Hooper, 2001b; Peterson, 2001; Jacoby, 2005; Azargun ve diğ., 2020).

#### 2.3.4. Kinolonlara Karşı Direnç Mekanizmaları

Kinolonlara karşı direnç gelişimine neden olan mekanizmalar 1) Hedef enzim moleküllerinde meydana gelen değişiklikler, 2) Hücrede kinolon birikiminin önlenmesi (membran geçirgenliğinin azaltılması ve aktif dışa atım pompa sisteminin aktivasyonu) ve 3) Plazmid aracılı kinolon direnci olmak üzere üçe ayrılır.

Bir bakteri hücresinde bu mekanizmaların her biri ayrı ayrı bulunabilir veya hepsinin bir araya gelerek bakteriye çok yüksek düzeyde kinolon direnci kazandırması da söz konusudur (Hooper, 2001; Aldred ve diğ., 2014; Azargun ve diğ., 2020).



**Şekil 2.5.** Bakteri hücresinde kinolon direncine neden olan mekanizmalar. (1) Kinolonların hedefi olan giraz ve topoizomeraz IV enzimlerini kodlayan genlerde meydana gelen mutasyonlar kinolon-enzim etkileşiminde azalmaya neden olur, (2) Plazmid aracılı direnç gelişimi (2a) Qnr proteinleri (sarı) kinolonun DNA-topoisomeraz kompleksine bağlanmasını engeller (2b) Bazı kinolonları asetile eden AAC(6')-Ib-cr aminoglikozit asetiltransferaz enzimi kinolonların etkinliğini azaltır (2c) Plazmid tarafından kodlanan dışa atım pompa proteinleri kinolonların hücrede etkin konsantrasyona ulaşmasını engeller, 3) Bakteri hücresinde kinolonların hücre içi konsantrasyonunun düşük seviyede tutulması (3a) Porin proteinlerinin ifadesini düşürerek kinolonların hücreye alımının azaltılması (3b) Kromozom tarafından kodlanan dışa atım pompa proteinlerinin artan ifadesi ile hücrede kinolon birikiminin azaltılması sağlanır (Aldred ve diğ., 2014).

#### 2.3.4.1. Hedef Enzimlerdeki Mutasyonlar

Kinolonların hedef enzimleri olan DNA giraz ve topoizomerez IV'ün alt birimlerini kodlayan genlerde meydana gelen spontan mutasyonlar kinolon-enzim etkileşimini azaltarak direnç gelişimine neden olmaktadır.

*E. coli* ve diğer gram-negatif bakterilerde, kinolon direnç gelişiminden primer olarak DNA giraz enziminde meydana gelen mutasyonlar sorumludur. GryA alt biriminin amino terminal ucundaki enzimin aktif bölgesinde yer alan tirozinin (Tyr-122) yakınında konumlanmış amino asitlerde meydana gelen mutasyonlar dirençte etkilidir. Kristalografik analizler, topoizomerizasyon sırasında GryA alt biriminin amino terminal ucundaki enzimin aktif bölgesinde 122 numaralı pozisyonla yer alan tirozin (Tyr122) amino asiti ile DNA'nın kesilmiş uçlarına bağlandığını ve kinolonların da bağlandığı kısmı oluşturan bu üç boyutlu bölgede kinolon direncine yol açan mutasyonların toplandığını göstermiştir. Bu yüzden bu bölgeye kinolon direncini belirleyici bölge (Quinolone Resistance Determining Region, QRDR) adı verilmiştir. GryA'nın 67 ve 106 nolu amino asitleri arasında uzanan QRDR bölgesi, numaralandırmada kısmen farklılıklar olsa da GryB, ParC ve ParE alt ünitelerinde de mevcuttur. QRDR, türe bağlı değişimler içermekle birlikte gram-negatif ve pozitif pek çok bakteride yüksek düzeyde korunmuş bir bölgedir. *E. coli* gibi gram-negatif bakterilerde en sık rastlanan GyrA mutasyonu 83 nolu pozisyonunda meydana gelen Serin83→Tryptofan veya Serin83→Lösin değişimidir. Bu pozisyonundaki değişim yüksek düzey nalidiksik asit direncine neden olurken, 2. kuşak kinolonlara direnç gelişiminde bu mutasyona ek olarak 87 nolu pozisyonunda Aspartik asit87→Asparajin (Valin, Tirozin veya Glisin) değişimleri de görülmektedir (Jacoby, 2005; Van Bambeke ve diğ., 2005; Hooper ve Strahilevitz, 2010; Aldred ve diğ., 2014; Azargun ve diğ., 2020). GyrB alt biriminde görülen amino asit değişimlerine bağlı direnç düşük olduğu gibi gelişen direnç tüm kinolonları kapsamayabilir. Gram-negatif bakterilerde, topoizomerez IV enzimi florokinolonların sekonder hedefidir. ParC ve ParE alt birimlerindeki mutasyonların GyrA mutasyonlarına eşlik ettiği ve DNA giraz'da mutasyon yoksa bu alt birimlerde meydana gelen mutasyonların sessiz kaldığı ve tek başlarına kinolon duyarlılığını değiştirmedikleri belirlenmiştir (Cengiz, 2010; Hooper ve Strahilevitz, 2010; Aldred ve diğ., 2014; Azargun ve diğ., 2020).

*S. aureus* ve diğer gram-pozitif bakterilerde ise kinolon direnç gelişiminde primer hedef topoizomerez IV enzimidir. GrlA alt biriminde en sık rastlanan mutasyon, 80 nolu

pozisyonda meydana gelen Serin80→Fenilalanin veya Serin80→Tirozin değişimidir ve ek olarak 84 nolu pozisyonda Glutamik asit84→Lösin değişimi de görülmektedir. GrIB alt birimindeki mutasyonların kinolon direnç gelişimine etkisi minimal düzeydedir. Sekonder hedef olan DNA giraz enziminin GryA alt birimindeki mutasyonların ancak topoizomera IV'ün GrIA alt birimindeki mutasyonlarla birlikte yüksek düzeyde kinolon direnç gelişimine neden olduğu belirlenmiştir (Coskun-Ari ve Bosgelmez-Tinaz, 2008; Cengiz, 2010; Hooper ve Strahilevitz, 2010; Aldred ve diğ., 2014).

Bakterilerin hedef enzimlerdeki değişikliklere bağlı kinolon direnci, basamaklar şeklinde gelişim gösterir ve mutasyonların etkisi ilacın “Minimal İnhibitör Konsantrasyon” (MİK) düzeylerine yansır. Genel olarak birincil hedef enzimdeki ilk mutasyon ikincil hedefte mutasyon gelişme olasılığını da arttırır. Birincil ve ikincil hedef enzimlerin her ikisinde birer veya daha fazla mutasyon gerçekleşmesi ise çok daha yüksek seviyede dirence ve yeni nesil kinolonlara direnç gelişimine yol açar. Birbirini takip eden mutasyonlara paralel olarak kinolon MİK düzeylerinde de artışlar (0.125-0.25'ten 128 mg/L) görülür (Hooper, 2001b; Gülay, 2002; Aldred ve diğ., 2014; Azargun ve diğ., 2020).

#### **2.3.4.2. Kinolon Birikiminin Önlenmesi**

Kinolonların bakterilerde etki gösterebilmeleri için sitoplazmik membranı geçerek hedef moleküllerine erişimleri gereklidir. Gram-negatif bakterilerde ilave olarak aşılması gereken bir de dış membran bulur. Bakteri hücrelerinde, kinolon birikimini önleyen iki temel mekanizma mevcuttur. Bunlardan birincisi Gram-negatiflerde dış membran porin kanalları ile ilacın hücreye girişinin azaltılması veya engellenmesi, ikincisi ise Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilerde aktif dışa atım (efflux) pompa sistemi ile dışarı atılarak hücre içindeki etkin miktarlarının azaltılmasıdır (Aldred ve diğ., 2014; Azargun ve diğ., 2020).

Gram-negatif bakterilerin dış membranında bulunan porin proteinleri membran geçirgenliğinde önemli rol oynar ve küçük yapıli kinolonlar porin kanallarından pasif difüzyonla hücreye kolayca girebilirler. Bu nedenle, mevcut porin proteinlerinin üretimini tamamen durduran ve sayılarının azalmasına neden olan veya porin kanalının seçiciliğini değiştiren mutasyonlar kinolonların dış membrandan girişini etkilemektedir. *E. coli*'de OmpA, OmpC ve OmpF gibi dış membran porin proteinlerinin düşük düzeyde ifade edilmeleri membran geçirgenliği azaltır. Özellikle dış membran ana proteinleri olan OmpF ve OmpC'nin düşük seviyeli ifadesi yalnızca hidrofilik florokinolonlar değil tetrasiklin,

trimetoprim, beta-laktamlar ve kloramfenikol gibi diğer antibiyotiklerin de hücredeki birikimini azaltmak suretiyle yüksek seviyede direnç neden olmaktadır. OmpF ve OmpC proteinleri diğer *Salmonella typhimurium* ve *Enterobacter cloacae* gibi diğer *Enterobacteriaceae*'lerde de bulunmaktadır (Malickbasha ve diğ., 2010; Doumith ve diğ., 2009). Gram-pozitif bakterilerin dış zarı olmadığı için ilaç birikiminin önlenmesinde membran geçirgenliğinin azaltılması Gram-negatiflerdeki gibi yaygın bir mekanizma değildir.

Aktif dışa atım (efflux) pompa sistemleri bakteriden insan hücrelerine kadar her hücre membranında bulunur ve görevleri sitoplazmik membrandan kolayca geçebilen amfilik (hidrofilik ve lipofilik yapıyı birlikte taşıyan) moleküllerin toksik olanlarını hücre dışına atmaktır. Taşıyıcı (transporter) proteinlerin oluşturduğu bu sistem ilk olarak *E. coli*'de tetrasiklin direnç profilinin araştırılması sırasında keşfedilerek tanımlanmıştır (Mcmurray ve diğ., 1980). Günümüzde, Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilerde aktif dışa atım pompa sisteminin birçok antibiyotiğe karşı dirençte rol oynayan önemli bir mekanizma olduğu belirlenmiştir (Gülay, 2002; Nazik ve Öngen, 2010; Azargun ve diğ., 2020).

Temel özelliklerine (kullanılan enerji, transport yolu, yapısal özellikleri, substratları gibi) göre aktif dışa atım pompa sistemleri “birincil ve ikincil sistemler” olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Birincil sistemler daha ziyade ökaryot hücrelerden antibiyotiklerin atılımında kullanılmaktadır. İkincil sistemler ise SMR (Small Multidrug Resistance), MET (Multidrug Endosomal Transporter), MAR (Multi Antimicrobial Resistance), RND (Resistance-Nodulation-Cell Division Superfamily) ve MFS (Major Facilitator Superfamily) olmak üzere 5 adet üst aileden oluşmaktadır (Kumar ve Schweizer, 2005). Bunlardan MET ailesi dışındakiler, prokaryot hücrelerde çeşitli antibiyotiklerin dışa atımında kullanılırlar. Gram-negatif bakterilerde ise antibiyotik direncinde en önemli rolü olan RND üst ailesidir ve tipik olarak üç protein içerdiğinden “üç elemanlı pompa sistemi” olarak isimlendirilir (Gülay, 2002; Nazik ve Öngen, 2010; Azargun ve diğ., 2020).

Bazı aktif dışa atım pompa sistemlerinin proteinleri kromozomda, bazıları da plazmitlerde bulunan genler ile kodlanmaktadır ve bu bakımdan antibiyotiklere karşı direnç doğal veya kazanılmış tipte olabilir (Webber ve Piddock, 2003). *E. coli*'de, kromozomda kodlanmış AcrB (pompa proteini), AcrA (membran füzyon proteini) ve TolC (dış membran proteini) proteinlerinden oluşan RND pompa sisteminin bazal seviyede sentezlenmesi bile doğal

dirence yol açmaktadır. OqxAB ve QepA aktif dışa atım pompa proteinleri ise plazmitte kodlandığı için kazanılmış dirence neden olmaktadır (Gülay, 2002; Hasdemir, 2007; Nazik ve Öngen, 2010; Li ve diğ., 2019).

Bakterilerde aktif dışa atım pompa sistemleri genellikle substratları olan moleküllerin varlığında indüklenerek aktif hale gelmektedir. Yüksek düzey kinolon direncinde genellikle pompa sistemlerinin aşırı üretimi rol oynamaktadır. *E. coli*'de AcrAB-TolC sisteminin substrat profili çok geniş olduğundan (florokinolonlar, beta-laktamlar, tetrasiklin, kloramfenikol, makrolidler ve fusidik asit gibi yapısal olarak birbirinden farklı antibiyotikleri ve hatta deterjan ve organik çözücülerini kapsar), kinolon tedavisi sırasında özellikle pompa sistemlerini kontrol eden regülatör genlerdeki mutasyonlar, pompa proteinlerinin ifadesini arttırmak suretiyle farklı antibiyotiklere karşı direnci indükleyerek çoklu antibiyotik direnç (Multiple Drug Resistance, MAR) fenotipine neden olmaktadır (Gülay, 2002; Hasdemir, 2007; Nazik ve Öngen, 2010).

#### **2.3.4.3. Plazmit Aracılı Kinolon Direnci**

Kinolonlara karşı direnç gelişiminde, kromozom dışı genetik elemanlar olan plazmitler üzerinde kodlanan genler de önemli rol oynamaktadır ve bu tip direnç “plazmit aracılı kinolon direnci” (Plasmid Mediated Quinolone Resistance, PMQR) olarak adlandırılmaktadır (Nazik ve Öngen, 2010; Aldred ve diğ., 2014; Azargun ve diğ., 2020).

Bugüne kadar, üç ayrı PMQR gen ailesi tanımlanmıştır: **1)** Kinolonların DNA giraz ve topoizomerez IV'e bağlanmasını bloke eden kinolon direnç (Qnr) proteinleri'ni kodlayan genler, **2)** Siprofloksasin ve norfloksasin gibi çeşitli florokinolonları asetilleyerek antibakteriyel aktivitelerini azaltan aminoglikozid asetil transferaz [AAC(6')-Ib-cr] enzimini kodlayan gen ve **3)** kinolonların hücrede birikimini azaltan aktif dışa atım pompa proteinleri QepA ve OqxAB'yi kodlayan genler (Li, 2005; Aldred ve diğ., 2014; Azargun ve diğ., 2020).

##### **2.3.4.3.1. Qnr proteinleri**

Plazmit aracılı kinolon direncinin varlığı ilk kez 1998'de bir hastanın idrar örneğinden izole edilen Gram-negatif *Klebsiella pneumoniae* suşunda ortaya konmuştur (Martínez-Martínez ve diğ., 1998). Direncin plazmit kaynaklı olduğu ve bu plazmitin (pMG252) fonksiyonel porin proteinlerine sahip bakterilerde kinolonlara duyarlılığı azaltırken, porin eksikliği olan

*E. coli*, *Salmonella typhimurium* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında nalidiksik asit ve florokinolonlara direnci 4 kattan 16 kata çıkardığı gözlenmiştir. *E. coli*'de diğer kromozomal mekanizmalarla birlikte bulunduğu kinolon direncini daha da arttıran plazmit aracılı bu yeni direnç mekanizmasına neden olan gene “*qnr*” adı verilmiştir. Klonlanan *qnr* geni ürününün protein-protein etkileşimlerinde yer alan pentapeptit tekrar ailesine ait bir protein olduğu tespit edilmiş ve QnrA olarak adlandırılan bu proteinin hem DNA giraz hem de topoizomeraz IV'ü siprofloksasin inhibisyonundan koruduğu gösterilmiştir (Martínez-Martínez ve diğ., 2003).

Dünya genelinde yapılan araştırmalarda, *Enterobacteriaceae* ailesinden birçok bakteride plazmit üzerinde kodlanan ve amino asit sayısı 214 ile 221 arasında değişen QnrA, QnrB, QnrC, QnrD, QnrE, QnrS ve QnrVC olmak üzere yedi farklı pentapeptit tekrar protein grubu tanımlanmıştır (Nordmann ve Poirel, 2005; Hata ve diğ., 2005; Cambau ve diğ., 2006; Fonseca ve diğ., 2008; Herrera-Leon ve diğ., 2011; Rodríguez-Martínez ve diğ., 2011; Seija ve diğ., 2015; Albornoz ve diğ., 2017). Günümüze kadar Qnr protein gruplarının çok sayıda allelik varyantları da (9 adet QnrA, 95 adet QnrB, 3 adet QnrD, 2 adet QnrE, 15 adet QnrS ve 10 adet QnrVC) bildirilmiş ancak sadece QnrC'nin bir varyantı henüz tespit edilmemiştir (Azargun ve diğ., 2020).

Qnr proteinlerinin, kinolonların hedef enzimi olan DNA giraz ve topoizomeraz IV'e bağlanarak kinolon-enzim-DNA kompleksinin oluşumunu engellemek suretiyle bu enzimleri kinolon inhibisyonuna karşı koruduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Tran ve diğ., 2005; Aldred ve diğ. 2014).

Kinolon duyarlı suşlarda, Qnr proteinlerinin yalnızca nalidiksik asite direnç sağladığı ve siprofloksasin, norfloksasin ve levofloksasin gibi florokinolonlara duyarlılığın azalmasına neden olduğu görülürken, hedef enzim değişiminden sorumlu kromozomal mutasyonlarla birlikte bulundukları suşlarda ise yüksek düzey kinolon direncine yol açarak tedaviyi zorlaştırdıkları belirlenmiştir (Martinez-martinez ve diğ., 1998; Jacoby ve diğ., 2006; Robicsek ve diğ., 2006; Martinez-martinez, 2008; Nazik ve Öngen, 2010; Yang ve diğ., 2014; Jacoby, 2017). Öte yandan, kinolon duyarlı bakterilere konjugatif plazmitlerle aktarılan Qnr proteinlerinin neden olduğu düşük düzeyli direnç, bu bakterilerde kromozomal mutasyon oluşumunu tetikleyici rol oynayabilmektedir (Hopkins ve diğ., 2005; Yang ve diğ., 2010).

Gram-negatif bakterilerdeki plazmit aracılı *qnr* genlerinin, bazı gram-pozitif bakterilerde de bulunduğu ve özellikle çevresel kaynaklı birçok türün kromozomlarında yer alan *qnr* benzeri genler ile sekans benzerliği gösterdiği tespit edilmiştir. Bu verilere dayanarak, PMQR *qnr* genlerinin büyük olasılıkla akuatik ve diğer çevresel ortamlarda yaşayan mikroorganizma kromozomlarından köken aldığı düşünölmektedir (Rodríguez-Martínez ve diğer., 2008; Strahilevitz ve diğer., 2009; Onuk ve diğer., 2015; Yanat ve diğer., 2017). Kinolonların yoğun kullanımına bağlı olarak *qnr* genlerinin mobil genetik elementler (transpozon, integron ve insersiyon sekansları gibi) aracılığı ile kromozomlardan plazmitlere aktarıldığı görüşünü destekleyen bulgulara ulaşılmıştır (Poirel ve diğer., 2005; Rodríguez-Martínez ve diğer., 2007).

Dünya genelinde yapılan çalışmalar, *qnr* genlerinin çok sayıda, farklı boyut ve tipte plazmit üzerinde bulunabildiğini, konjugatif plazmitler aracılığı ile çeşitli bakteri türleri arasında çok hızlı bir şekilde Kuzey ve Güney Amerika, Avrupa, Asya ve Afrika'ya kinolon direncinin yayılmasında rol oynadığını ortaya koymuştur (Rodríguez-Martínez ve diğer., 2007; Strahilevitz ve diğer., 2009; Yang ve diğer., 2014). Bu plazmitlerin çoğunun *qnr* genleri yanı sıra, çoklu ilaç direncinden sorumlu olan geniş spektrumlu beta laktamaz (GSBL), karbepenemaz ve diğer direnç genlerini de taşıdığı saptanmıştır. GSBL üreten *Enterobacteriaceae*'lerin, GSBL üretmeyen izolatlarla kıyasla florokinolonlara karşı önemli ölçüde daha yüksek dirence sahip olduğu tespit edilmiştir (Iabadene ve diğer. 2008; Pakzad ve diğer. 2011). *Enterobacteriaceae* izolatlarında, *qnrA* geninin CTX-M1, CTX-M9, CTX-M14, CTX-M-15, TEM-116, SHV-7, SHV-12, SHV-27 ve VEB-1 beta laktamaz genleri, *qnrB*'nin CTX-M-15, DHA-1, KPC-2, IMP-4, SHV-12, ve SHV-30 beta laktamaz genleri ve *qnrS*'nin ise CTX-M-15, TEM-1, TEM-116 ve SHV-12 beta laktamaz genleri ile sıklıkla aynı plazmitler üzerinde taşıındığı gösterilmiştir (Martínez-Martínez ve diğer. 2008; Azargun ve diğer. 2018). Ayrıca *qnr* genlerinin, beta laktamaz dışı antibiyotik direnç genlerinin (*aac(6')*-*Ib-cr*, *aadA1*, *aadA2*, *dfrA1*, *dfrA12*, *cmlA1*, *catB2*, *sulI* gibi) bazılarıyla da aynı plazmit üzerinde bulunabildiği saptanmıştır (Nazik ve Öngen, 2010; Rodríguez-Martínez ve diğer., 2011).

#### **2.3.4.3.2. AAC(6')-Ib-cr Enzimi**

Bakterilerde, *aac(6')*-*Ib* geni ile kodlanan aminoglikozit asetil transferaz enzimi amikasin, kanamisin ve tobramisin antibiyotiklerine karşı dirençten sorumludur. Aminoglikozit asetil

transferaz enziminin bir varyantının ise *Enterobacteriace* türlerinde PMQR ile ilişkili diğer bir determinant olduğu belirlenmiştir (Robicsek ve diğ., 2006; Nazik ve Öngen, 2010).

Siprofloksasin gibi bazı florokinolon grubu antibiyotikleri modifiye ederek antibakteriyel aktivitelerini azaltan bu varyant enzimi kodlayan gen, ilk defa 2006'da Çin'in Şanghay şehrinde *qnrA* pozitif olan bir klinik *E. coli* suşundan izole edilen plazmitte tespit edilmiştir. Sekans analizi ile bu geninin aslında *aac(6')-Ib* geninin yeni bir alleli olduğunu ortaya koymuştur. Bu yeni allel *aac(6')-Ib-cr* geni ve kodladığı varyant aminoglikozit asetil transferaz ise AAC(6')-Ib-cr enzimi olarak adlandırılmıştır. Trp102→Arg ve Asp179→Tyr değişimleri taşıyan bu varyant aminoglikozit asetil transferaz enziminin, norfloksasin ve siprofloksasinin C-7 pozisyonuna ekli piperazinil halkasının amino azotunu asetillemek suretiyle inaktivasyonuna ve sonuç olarak bu florokinolonlara duyarlılığın azalmasına neden olduğu saptanmıştır (Robicsek ve diğ., 2006). AAC(6')-Ib-cr enziminin piperazinil nitrojeni taşımayan nalidiksik asit gibi kinolonlara karşı etkisiz olduğu tespit edilmiştir (Rodríguez-Martínez ve diğ., 2011). AAC(6')-Ib-cr enzimi tek başına düşük seviyeli bir direnç oluşturur ancak topoizomerez mutant suşların seçilmesine katkıda bulunması söz konusudur. Ayrıca, Qnr determinantları birlikte olduğunda MİK değerlerinde klinik açıdan anlamlı (3-4 katlık) bir artışa da yol açabilmektedir (Robicsek ve ark., 2006).

*Enterobacteriace* türlerinde PMQR determinantları arasında en baskını olduğu saptanan *aac(6')-Ib-cr* geninin, yapılan bazı çalışmalarda GSBL ve *qnr* genlerini de barındıran çoklu ilaç direncine sahip konjugatif plazmitler üzerinde yer aldığı da görülmüştür (Park ve diğ., 2006; Machado ve diğ., 2006; Kang ve diğ., 2009).

#### **2.3.4.3.3. PMQR aktif dışa atım (efflux) pompa proteinleri (OqxAB ve QepA)**

*Enterobacteriace* türlerinde kinolon direncinde major rol oynayan aktif dışa atım pompa proteinlerinden RND (Resistance-Nodulation-Cell Division Superfamily) ailesi üyesi AcrB (pompa), AcrA (membran füzyon) ve TolC (dış membran) proteinlerini kodlayan genler kromozomda yer alırken, OqxAB ve QepA aktif dışa atım pompa proteinlerini kodlayan genler ise PMQR plazmitleri üzerinde taşınmaktadır (Strahilevitz ve diğ., 2009; Taherpour ve Hashemi, 2013)

**OqxA ve OqxB:** İlk kez 2003'te Danimarka'da domuz gübresinden izole edilen bir *E. coli* suşunda rastlanan ve pOLA52 adı verilen konjugatif plazmit üzerinde bulunan iki genin

RND ailesinin üyesi olan iki aktif dışa atım pompa proteinini kodlandığı saptanmıştır. Domuzlarda büyüme desteği için kullanılan olakindoks büyüme faktörünün *E. coli*'de hücre dışına atılmasında ve olakindoks direnç gelişiminde rol oynadığı tespit edilen bu pompa proteinleri OqxA ve OqxB olarak isimlendirilmiştir (Sørensen ve diğ., 2003). 2009 yılında ise Güney Kore'de 1999 yılında bir hastanın kanından izole edilen *E. coli* suşunda tanımlanan *oqxA* ve *oqxB* genlerinin ürünü olan OqxA ve OqxB proteinlerinin, olakindoks yanı sıra kinolonlar, kloramfenikol, trimetoprim, nitrofurantoin, tetrasiklin, dezenfektanlar ve deterjanlara karşı çoklu direnç sağladığı Hansen ve arkadaşları tarafından belirlenmiştir (Hansen ve diğ., 2004). Ayrıca, kümes hayvanları ve çevresel örneklerden izole edilen *E. coli* suşlarında da *oqxA* ve *oqxB* genlerinin bulunabildiği rapor edilmiştir (Chen ve diğ., 2012). Son yıllarda gerçekleştirilen kristalografik analizler ile OqxB'nin yapısının *E. coli* AcrB pompa proteininin yapısı ile büyük oranda homolog olduğunu ortaya koymuştur (Li ve diğ., 2019).

OqxAB dışa atım pompa sisteminin, florokinolonlara karşı düşük seviyeli direnç gösterdiği ancak düşük florokinolon konsantrasyonlarında bakterilerin hayatta kalmasında rol oynadığı ve yüksek seviyeli dirençle ilgili hedef bölge gen mutasyonlarına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Piddock, 2006). Ayrıca, OqxA ve OqxB proteinlerinin aşırı düzeyde ifadesinin kinolon MİK değerinde dört kattan daha büyük artışlara yol açabildiği saptanmıştır (Hansen ve diğ., 2007).

Klinik *E. coli* izolatlarında *oqxAB* genlerinin, *aac(6')-Ib-cr* ve çeşitli GSBL enzimleri ile aynı plazmit üzerinde bulunduğu saptanmış ve bu genlerin birlikte yayılımının tedavide ciddi bir sorun oluşturacağı öngörülmüştür (Yang ve diğ., 2015).

**QepA:** Bir diğer plazmit aracılı aktif dışa atım pompa proteini olan QepA'yı kodlayan gen ise Japonya'da bir hastanın idrar örneğinden elde edilen bir klinik *E. coli* izolatında 2007 yılında tanımlanmıştır (Yamane ve diğ., 2007). QepA proteininin, siprofloksasin, norfloksasin ve enrofloksasin gibi hidrofilik florokinolonları hücre dışına pompalayarak bunlara karşı duyarlılığın azalmasına (MİK'te 8 ile 32 kat artışa) neden olan proton bağımlı taşıyıcılardan MFS (Major Facilitator Superfamily) ailesi ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır (Périchon ve diğ., 2007). *E. coli* izolatlarında, QepA'nın (güncel adıyla QepA1'in Phpa ve pIP1206 konjugatif plazmitleri üzerinde taşındığı tespit edilmiştir (Périchon ve diğ., 2007). 2008 yılında ise Fransa'da yine bir *E. coli* izolatında QepA2

varyantı bulunmuştur (Cattoir ve diğ., 2008). Günümüze kadar, *Enterobacteriaceae* yanı sıra *Pseudomonadaceae* ve *Moraxellaceae* izolatlarında QepA'nın maksimum beş amino asit pozisyonunda farklılık gösteren on farklı (QepA1-QepA10) allelik varyantı tanımlanmıştır (Ruiz, 2018).

Klinik *E. coli* izolatlarında, *bla*TEM-1 ve *bla*CTX-M-14 beta laktamaz ve aminoglikozit ribozomal metilaz kodlayan *rmtB* genleri ile *qepA* geninin aynı plazmit üzerinde taşındığı gösterilmiş ve çoklu ilaç direncinin yayılmasını teşvik edici bir durum olarak değerlendirilmektedir (Kim ve diğ., 2009). Ayrıca, PMQR *qepA*, *aac(6)-Ib-cr* ve *qnrS2* genlerini birarada taşıyan *E. coli* izolatları domuzlarda da tespit edilmiş ve PMQR gen birlikteliğinin kromozomal mutant suşların doğada seçilmesine neden olabileceği için antibiyotik tedavisi açısından olumsuz rol oynayabileceği belirtilmiştir (Liu ve diğ., 2008).

### 3. MALZEME VE YÖNTEM

#### 3.1. Malzemeler

##### 3.1.1. Besiyerleri ve Kimyasallar

Çalışmada kullanılan besiyerleri Merck (Almanya) firmasından temin edildi. Klinik *E. coli* izolatlarının izolasyonu, çoğaltılması ve gerekli olan seri ekimleri Eozin Metilen Mavisi (EMB) Agar besiyeri kullanılarak gerçekleştirildi. İzolatlar Mueller Hinton Agar (MHA) besiyerinde üretildikten sonra antibiyotik duyarlılık testleri yapıldı. Antibiyotik diskleri (Ampisilin, amoksisilin/klavulanik asit, sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, seftazidim, sefepim, aztreonam, nalidiksik asit, ofloksasin, siprofloksasin, gentamisin ve Trimethoprim/Sülfametaksazol) Bioanalyse (Türkiye) firmasından temin edildi. İzolatlardan DNA izolasyonu için Luria-Bertani (LB) Agar ve Sıvı besiyerleri kullanıldı.

Tezin moleküler analizlerinde kullanılan Tris-asetat-EDTA (50XTAE pH 8,3) tamponu, Jel yükleme tamponu (6X) ve DNA belirteci (100 bp DNA ladder) Thermo Fisher Scientific (USA) firmasından satın alındı. PCR için Taq DNA polimeraz enzimi, dNTP ve 1.5 mM MgCl<sub>2</sub> içeren Taq DNA Polymerase 2X Master Mix RED kullanıma hazır karışım Ampliqon (Denimarka) firmasından temin edildi. Etidyum bromür solüsyonu (10 mg/ml) Sigma Aldrich (USA) firmasından, Agarose CondaLab (İspanya) firmasından temin edildi. Konjugasyon deneylerinde kullanılan rifampisin Sanofi (Türkiye) firmasından ve konjugatif plazmit izolasyonunda kullanılan GeneJet Plasmid Miniprep Kit'i Thermo Fisher Scientific, (USA) firmasından temin edildi.

##### 3.1.2. Cihazlar

Bu tez çalışması Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmada çalkalamalı su banyosu (Memmert, model WNB22), otoklav (Hirayama, HG50), distile su cihazı (GFL, 2001/4), inkübatör (Memmert, Model 55), Sınıf-1 steril kabin (Arma), vorteks (Scilogex, MX-S), analitik terazi (Ohaus, AV264C), Magnetik Karıştırıcı (Scilogex, MS-H-S), mikrosantrifüj (Sigma, Sigma 1-14), Mikrodalga Fırın (Vestel, MW 20-MV), Thermocycler (Biorad, T-100), horizontal mini jel elektroforez ve güç kaynağı (Techne, Techne B2), Jel Görüntüleme Sistemi (Biorad) Derin

dondurucu (Vestel, DDP-S1101 W) ve No-Frost buzdolabı (Vestel, NFP) cihazları kullanıldı.

### 3.1.3. Primerler

Bu tez çalışmasına dahil edilen 59 *E. coli* izolatının kinolon antibiyotiklerine karşı dirençli olmasını sağlayan plazmit aracılı dört kinolon direnç genleri bu genlere özgü primerler kullanılarak PCR yöntemi belirlendi. Sentebiolab (Ankara, Türkiye) firmasından temin edilen primer çiftlerinin baz dizileri ve özellikleri Tablo 3.1’de verilmiştir.

**Tablo 3.1.** Çalışmada kullanılan primerler.

| Gen                   | Primer | Sekans (5’-3’)          | Pozisyon | bp  | Tm (°C) | Kaynak                |
|-----------------------|--------|-------------------------|----------|-----|---------|-----------------------|
| <i>qnrA1- qnrA6</i>   | F      | AGAGGATTTCTCACGCCAGG    | 30-49    | 580 | 57      |                       |
|                       | R      | TGCCAGGCACAGATCTTGAC    | 589-608  |     |         |                       |
| <i>qnrB1- qnrB6</i>   | F      | GGMATHGAAATTCGCCACTG*   | 283-302  | 264 | 57      | Cattoir ve diğ., 2007 |
|                       | R      | TTGCGYGYCGCCAGTCGAA*    | 526-545  |     |         |                       |
| <i>qnrS1- qnrS2</i>   | F      | GCAAGTTCATTGAACAGGGT    | 137-156  | 428 | 57      |                       |
|                       | R      | TCTAAACCGTCGAGTTCGGCG   | 543-563  |     |         |                       |
| <i>aac-(6’)-Ib-cr</i> | F      | TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA | 53-75    | 482 | 57      | Park ve diğ., 2006    |
|                       | R      | CTCGAATGCCTGGCGTGTTT    | 515-534  |     |         |                       |

\*M= A veya C; H= A veya C veya T; Y= C veya T bazları.

### 3.1.4. Referans ve Rekombinant Suşlar

Plazmit aracılı *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* ve *aac(6’)-Ib-cr* kinolon direnç genlerini taşıyan referans bakteri suşları PCR deneylerinde pozitif kontrol olarak kullanıldı. Konjugasyon deneylerinde plazmit aktarımı için rifampisin dirençli *E. coli* J53-2 ( $F^- met^- pro^- Rif^R$ ) suşu alıcı hücre olarak kullanıldı. *E. coli* ATTC 25922 suşu ise antibiyogram çalışmalarında kontrol olarak kullanıldı.

### 3.1.5. *E. coli* İzolatları

Çalışmada kullanılan *E. coli* izolatları Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı stoklarından temin edildi. Bu tez çalışması için Eylül 2018-Ocak 2019 tarihleri arasında Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesinde izole edilen 59 siproflaksasin dirençli *E. coli* izolatı seçildi. Çeşitli

kl niklerden ve farklı klinik örneklerden izole edilen *E. coli* izolatlarının tür düzeyinde tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıkları VITEK® 2 otomatize sistemi (bioM rieux, Marcy l'Etoile, Fransa) ile Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

### 3.2. Yöntemler

#### 3.2.1. Referans Suşlar ve Klinik İzolatlardan Total DNA İzolasyonu

Çalışılan direnç genlerinin tespiti için referans suşlar ve klinik *E. coli* izolatlarından total DNA izolasyonu kaynatma metodu kullanılarak gerçekleştirildi (Ausubel ve diğ., 1995). İlk olarak izolatlar 3 ml LB broth besiyeri içerisinde 37 C'de çalkalamalı inkübatörde büyütüldü. Daha sonra kültürün 1.5 ml'si santrifüj yardımı ile   kt r ld  (14.800 rpm, 3 dk). Üst sıvı atıldıktan sonra hücre pelleti üzerine 300  l steril dH O ilave edildi ve vorteks yardımı ile çözüldü.   z nen pellet su banyosunda 10 dk kaynatıldı. Daha sonra oda sıcaklığına kadar soğuması sağlandı ve 14.800 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek atık kısımların çökmesi sağlandı. Total DNA'yı içeren süpernatant yeni bir ependorf tüpüne aktarılarak PCR çalışmalarında kalıp DNA olarak kullanıldı.

#### 3.2.2. Plazmit Aracılı Kinolon Direnç Genlerinin Tespiti

Bu tez çalışmasında Tablo 3.1'de verilen plazmit aracılı kinolon direnç genlerine spesifik primerler kullanılarak *aac(6')-Ib-cr* aminoglikozid ve *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* genlerinin varlığı PCR yardımı ile tespit edildi.

Tüm reaksiyonlar 2X PCR Master Mix (Amplicon, Danimarka)'ten 12.5  l, 10 pmol/ l konsantrasyondaki primer çiftlerinden 0.5  l alınarak hazırlandı. Kaynatma yöntemi ile elde edilen total DNA'dan reaksiyon başına 5  l kullanılarak son hacim steril mili-Q ultra saf su ile 25  l'ye tamamlandı.

Tüm PCR reaksiyonları, thermalcycler cihazında 1 döngü 95 C'de 3 dk, 30 döngü 95 C'de 45 sn, 58 C'de 45 sn ve 72 C'de 50 sn, 1 döngü 72 C'de 5 dk şekilde gerçekleştirildi. PCR sonucunda örneklerin 5  l'si etidyum bromür içeren %1'lik agaroz jel kuyularına yüklendi, 150 Volt'da 1 saat boyunca elektroforez işlemi gerçekleştirildi ve jel görüntüleme sisteminde UV ışığı altında jel görüntülemesi yapıldı. PCR fragmentleri pozitif kontrol ve belirteç DNA bantları ile karşılaştırılarak genlerin varlığı tespit edildi.

### 3.2.3. Konjugasyon Deneyleri

Çalışılan kinolon direnç genlerinin *E. coli* izolatlarında konjugatif plazmitler üzerinde bulunup bulunmadığı Broth Mating metodu kullanılarak belirlendi (Alpay-Karaoglu ve diğ., 2007). Konjugasyon deneylerinde rifampisin dirençli *E. coli* J53-2 (F<sup>-</sup>, *pro*<sup>-</sup>, *met*<sup>-</sup>, Rif<sup>R</sup>) suşu alıcı hücre olarak kullanıldı. Test edilecek 59 klinik *E. coli* donör hücreden ve alıcı *E. coli* J53-2 hücresinden birer koloni ayrı ayrı 3 ml LB içeren tüplere inoküle edildi ve tüpler bir gece çalkalamalı ortamda 37°C’de inkübe edildi. Ertesi gün her bir örneğin kültüründen 1 ml’si alınarak 1 ml *E. coli* J53-2 hücresi ile 1:1 oranında karıştırıldı ve konjugasyon için tüpler 18 saat boyunca bu kez çalkalamasız ortamda 37°C’de inkübe edildi. Transkonjugant hücre kolonileri, rifampisin (150 µg/ml) ve siproflaksasin (50 µg/ml) içeren LB Agar plakaları üzerinde seçildi.

Transkonjugant hücrelerdeki plazmit varlığını tespit etmek için plazmit izolasyonu yapıldı. Rifampisin (150 ug/ml) ve siproflaksasin (50 µg/ml) içeren 3 ml LB besiyerine aktarılan transkonjugant hücre örnekleri çalkalamalı ortamda 37°C’de bir gece inkübe edildi. Transkonjugant hücreler santrifüj ile toplandıktan sonra GeneJet Plasmid Miniprep Kit (Thermo Fisher Scientific, USA) kullanılarak ve üretici firmanın önerileri doğrultusunda plazmit izolasyonları gerçekleştirildi. Transkonjugant hücrelerden izole edilen plazmitler kalıp DNA olarak PCR reaksiyonlarında kullanıldı. Transkonjugantlardaki kinolon direnç genleri Tablo 3.1’de verilen primerler kullanılarak ve bölüm 3.2.2’deki koşullarda PCR reaksiyonları gerçekleştirilerek araştırıldı.

### 3.2.4. Transkonjugant Hücrelerin Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Transkonjugant hücrelerin antibiyotik duyarlılıklarını belirlemek için Kirby-Bauer standart disk difüzyon metodu kullanıldı (Wayne, 2015). Ampisilin (10 µg), amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg), sefuroksim (30 µg), sefotaksim (30 µg), seftriakson (30 µg), seftazidim (30 µg), sefepim (30 µg), aztreonam (30 µg), nalidiksik asit (30 µg) ofloksasin (10 µg), siprofloksasin (5 µg) ve gentamisin (10 µg) diskleri ile antibiyogram gerçekleştirildi ve elde edilen zon çapları CLSI kriterlerine göre yorumlandı (CLSI, 2016). *E. coli* ATCC 25922 suşu ise kontrol olarak kullanıldı

## 4. BULGULAR

### 4.1. *E. coli* İzolatları ve Antibiyotik Direnç Profilleri

Çalışmada kullanılan 59 klinik *E. coli* izolatı KAEÜEAH'nin Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı stoklarından temin edildi. Eylül 2018-Ocak 2019 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden ve farklı klinik örneklerden izole edilerek tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıkları VITEK® 2 otomatik sistem (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) ile Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiş olan siprofloksasin dirençli *E. coli* izolatlarının demografik özellikleri ve antibiyotik duyarlılıkları Tablo 4.1'de verildi.

Klinik örneklerin 16'sı (%27,1) Üroloji Servisinden, 15'i (%25,4) Yoğun Bakımdan, 8'i (%13,5) Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Servisinden, 8'i (%13,5) Dahiliye Servisinden, 7'si (%11,8) Genel Cerrahi Servisinden, 2'si (%3,3) Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Servisinden, 2'si (%3,3) Nefroloji Servisinden ve 1'i (%1,6) Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon (FTR) Servisinden Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilmişti. *E. coli* izolatlarının 45'i (%76,3) idrar, 7'si (%11,8) kan, 5'i (%8,5) yara ve 2'si (%3,4) trakeal aspirat kültür örneklerinden izole edilmişti (Tablo 4.1).

Tümü siproflaksasine (CIP) dirençli olan 59 *E. coli* izolatının 16 farklı antibiyotiğe karşı antibiyotik duyarlılıkları incelendi. İzolatların siproflaksasin direnci yanında tamamının (%100) ampisilin'e (AMP), sefuroksim'e (CXM), sefotaksim'e (CTX), seftriakson'a (CRO), nalidiksik asit'e (NA) ve ofloksasin'e (OFX) karşı dirençli olduğu tespit edildi. İzolatların 52'sinin (%88,13) seftazidim'e (CAZ), 50'sinin (%84,74) aztreonam'a (ATM), 22'sinin (%37,28) sefepim'e (FEP), 16'sının (%27,11) amoksisilim-klavulanik asit'e (AMC) ve 15'inin (%25,42) gentamisin'e (GN) karşı dirençli olduğu belirlendi. İmipenem (IMP), meropenem (MEM) ve amikasin (AK) antibiyotiklerine karşı hiçbir izolatta direnç tespit edilemedi. İzolatlardan tümünün (%100) en az 3 farklı antibiyotik grubuna karşı direnç taşıdıkları ve çoklu ilaç direncine sahip oldukları saptandı (Tablo 4.1).

**Tablo 4.1.** Kinolon dirençli *E. coli* izolatlarının demografik özellikleri ve antibiyotik direnç profilleri.

|    |        |        |       | $\beta$ -Laktam |                             |                 |     |     |     |     |               |               |     | Kinolon  |          |     | Aminoglikozid |    |
|----|--------|--------|-------|-----------------|-----------------------------|-----------------|-----|-----|-----|-----|---------------|---------------|-----|----------|----------|-----|---------------|----|
|    |        |        |       | Penisilinler    | B-laktam/ $\beta$ -laktamaz | Sefalosporinler |     |     |     |     | Monobaktamlar | Karbapenemler |     | 1. kuşak | 2. kuşak |     |               |    |
|    | İzolat | Servis | Örnek | AMP             | AMC                         | CXM             | CTX | CRO | CAZ | FEP | ATM           | IMP           | MEM | NA       | OFX      | CIP | AK            | GN |
| 1  | Ec1    | ÜRO    | İdrar | D               | H                           | D               | D   | D   | D   | H   | D             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | H  |
| 2  | Ec4    | NEF    | İdrar | D               | H                           | D               | D   | D   | D   | D   | D             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | D  |
| 3  | Ec6    | ÜRO    | İdrar | D               | H                           | D               | D   | D   | D   | D   | D             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | H  |
| 4  | Ec8    | YB     | İdrar | D               | H                           | D               | D   | D   | D   | D   | D             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | D  |
| 5  | Ec10   | GC     | Yara  | D               | D                           | D               | D   | D   | D   | H   | D             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | H  |
| 6  | Ec15   | YB     | İdrar | D               | H                           | D               | D   | D   | D   | H   | D             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | H  |
| 7  | Ec16   | YB     | Kan   | D               | D                           | D               | D   | D   | D   | D   | D             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | H  |
| 8  | Ec20   | ÜRO    | İdrar | D               | D                           | D               | D   | D   | D   | H   | D             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | D  |
| 9  | Ec21   | EHKM   | İdrar | D               | D                           | D               | D   | D   | D   | H   | D             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | D  |
| 10 | Ec22   | DAH    | İdrar | D               | H                           | D               | D   | D   | D   | D   | D             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | H  |
| 11 | Ec23   | ÇSH    | İdrar | D               | H                           | D               | D   | D   | D   | H   | D             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | H  |
| 12 | Ec32   | DAH    | İdrar | D               | H                           | D               | D   | D   | D   | H   | H             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | H  |
| 13 | Ec33   | ÇSH    | İdrar | D               | H                           | D               | D   | D   | H   | H   | D             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | H  |
| 14 | Ec40   | DAH    | İdrar | D               | H                           | D               | D   | D   | D   | H   | H             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | H  |
| 15 | Ec42   | ÜRO    | İdrar | D               | H                           | D               | D   | D   | D   | D   | D             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | H  |
| 16 | Ec44   | ÜRO    | İdrar | D               | H                           | D               | D   | D   | D   | H   | D             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | H  |
| 17 | Ec48   | YB     | İdrar | D               | H                           | D               | D   | D   | D   | H   | D             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | H  |
| 18 | Ec56   | DAH    | İdrar | D               | H                           | D               | D   | D   | D   | H   | D             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | H  |
| 19 | Ec58   | EHKM   | İdrar | D               | D                           | D               | D   | D   | D   | H   | H             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | D  |
| 20 | Ec61   | ÜRO    | İdrar | D               | H                           | D               | D   | D   | D   | H   | D             | H             | H   | D        | D        | D   | H             | H  |

|    | İzolat | Servis | Örnek | AMP | AMC | CXM | CTX | CRO | CAZ | FEP | ATM | IMP | MEM | NA | OFX | CIP | AK | GN |
|----|--------|--------|-------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|----|----|
| 21 | Ec62   | YB     | TAK   | D   | H   | D   | D   | D   | D   | H   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 22 | Ec64   | EHKM   | İdrar | D   | H   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 23 | Ec66   | DAH    | İdrar | D   | H   | D   | D   | D   | D   | H   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 24 | Ec67   | GC     | Yara  | D   | H   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 25 | Ec68   | YB     | İdrar | D   | D   | D   | D   | D   | D   | H   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 26 | Ec69   | YB     | İdrar | D   | H   | D   | D   | D   | D   | H   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | D  |
| 27 | Ec70   | YB     | İdrar | D   | H   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 28 | Ec79   | DAH    | İdrar | D   | H   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 29 | Ec82   | ÜRO    | İdrar | D   | H   | D   | D   | D   | D   | H   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 30 | Ec84   | DAH    | Yara  | D   | H   | D   | D   | D   | D   | H   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | D  |
| 31 | Ec86   | EHKM   | İdrar | D   | H   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | D  |
| 32 | Ec87   | EHKM   | İdrar | D   | H   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | D  |
| 33 | Ec88   | DAH    | Yara  | D   | H   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | D  |
| 34 | Ec90   | EHKM   | İdrar | D   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | D  |
| 35 | Ec91   | ÜRO    | İdrar | D   | H   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 36 | Ec92   | ÜRO    | İdrar | D   | H   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 37 | Ec97   | ÜRO    | İdrar | D   | H   | D   | D   | D   | H   | H   | H   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 38 | Ec104  | GC     | Yara  | D   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 39 | Ec108  | YB     | TAK   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 40 | Ec109  | GC     | Kan   | D   | H   | D   | D   | D   | D   | H   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | D  |
| 41 | Ec115  | YB     | İdrar | D   | H   | D   | D   | D   | D   | H   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 42 | Ec116  | GC     | İdrar | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 43 | Ec117  | YB     | İdrar | D   | H   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | D  |
| 44 | Ec124  | ÜRO    | İdrar | D   | H   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 45 | Ec126  | ÜRO    | İdrar | D   | H   | D   | D   | D   | H   | H   | H   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 46 | Ec130  | ÜRO    | İdrar | D   | H   | D   | D   | D   | D   | H   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 47 | Ec131  | ÜRO    | İdrar | D   | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 48 | Ec132  | NEF    | İdrar | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | D  |
| 49 | Ec140  | YB     | Kan   | D   | H   | D   | D   | D   | D   | H   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |

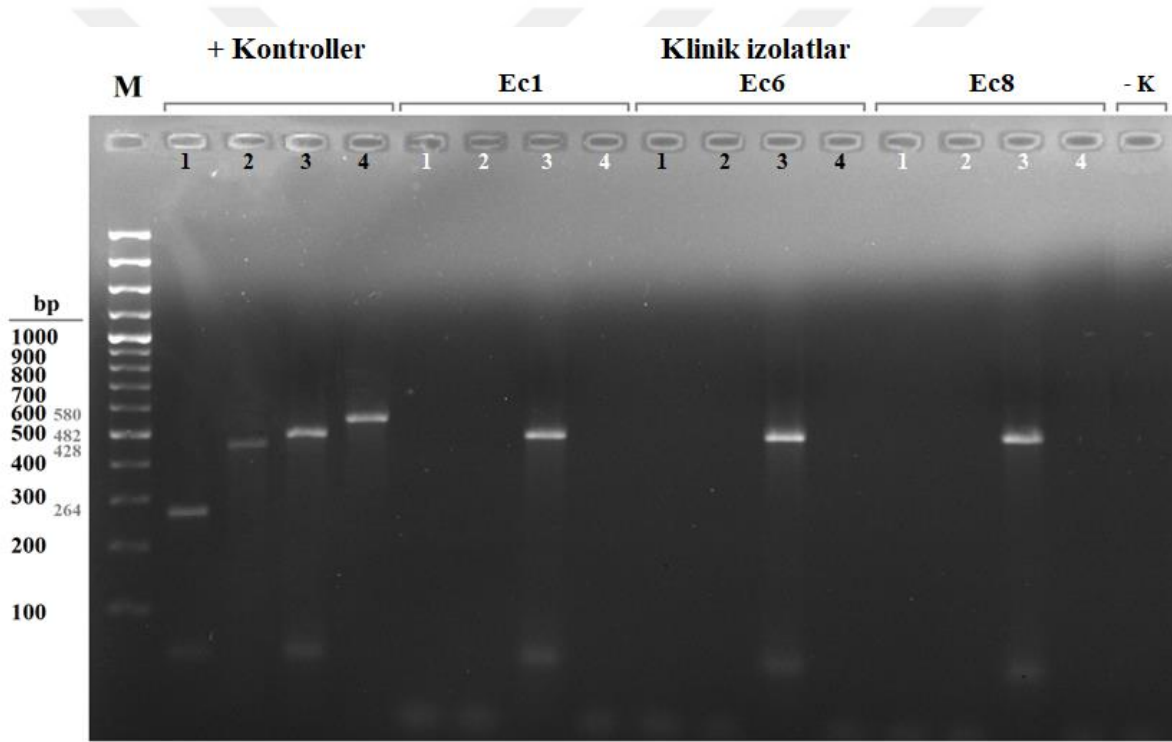
|    |         |        |       |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |     |     |    |    |
|----|---------|--------|-------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|----|----|
| 50 | Ec146   | YB     | Kan   | D   | H   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | D  |
|    | İzolant | Servis | Örnek | AMP | AMC | CXM | CTX | CRO | CAZ | FEP | ATM | IMP | MEM | NA | OFX | CIP | AK | GN |
| 51 | Ec147   | GC     | İdrar | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 52 | Ec148   | YB     | İdrar | D   | H   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 53 | Ec151   | EHKM   | İdrar | D   | H   | D   | D   | D   | D   | H   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 54 | Ec156   | ÜRO    | İdrar | D   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 55 | Ec159   | FTR    | İdrar | D   | H   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 56 | Ec161   | GC     | Kan   | D   | H   | D   | D   | D   | D   | H   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 57 | Ec164   | EHKM   | İdrar | D   | D   | D   | D   | D   | D   | H   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 58 | Ec173   | ÜRO    | Kan   | D   | H   | D   | D   | D   | H   | H   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |
| 59 | Ec174   | YB     | Kan   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | D   | H   | H   | D  | D   | D   | H  | H  |

ÜRO: Üroloji, NEF: Nefroloji, YB: Yoğun Bakım, GC: Genel Cerrahi, EHKM: Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, DAH: Dahiliye, ÇSH: Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, FTR: Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon, TAK: Trakeal Aspirat Kültürü, AMP: Ampisilin, AMC: Amoksisilin/Klavunolik Asit, CXM: Sefuroksim (II. Kuşak Sefalosporin), CTX: Sefotaksim (III. Kuşak Sefalosporin), CRO: Seftriakson (III. Kuşak Sefalosporin), CAZ: Seftazidim (III. Kuşak Sefalosporin), FEP: Sefepim (IV. Kuşak Sefalosporin), ATM: Aztreonam, IMP: İmipenem, MEM: Meropenem, NA: Nalidiksik asit, OFX: Ofloksasin, CIP: Siproflaksasin, AK: Amikasin, GN: Gentamisin, D: Dirençli, H: Hassas.

#### 4.2. *E. coli* İzolatlarında Plazmit Aracılı Kinolon Direnç Genlerinin Varlığı

Çalışmada 1. ve 2. kuşak kinolon antibiyotiklerine dirençli oldukları tespit edilen *E. coli* izolatlarının plazmit aracılı kinolon direnç genleri [*qnrA*, *qnrB*, *qnrS* ve *aac-(6')-Ib-cr*] PCR yardımı ile belirlendi.

Gerçekleştirilen PCR işlemi sonucunda izolatların 39'unda (%66,1) *aac-(6')-Ib-cr* geninin var olduğu tespit edildi. Çalışmadaki hiçbir *E. coli* izolatında *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* genleri tespit edilemedi (Şekil 4.1) ve (Tablo 4.2).



**Şekil 4.1.** PCR sonrası kinolon direnç genlerinin örnek agaroz jel görüntüsü. M: DNA belirteci (100 bp DNA ladder, Thermo Fisher Scientific), 1: *qnrB* (264 bp), 2: *qnrS* (428 bp), 3: *aac-(6')-Ib-cr* (482 bp) ve 4: *qnrA* (580 bp) genlerini göstermektedir.

#### 4.3. Aktarılabılır Plazmit Aracılı Kinolon Direnç Genlerinin Varlığı

Çalışmada gerçekleştirilen konjugasyon deneyleri sonucunda, 59 *E. coli* izolatından 10'unun (%16,9) konjugatif bir plazmit taşıdığı tespit edildi (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2.** Kinolon direnç genlerini ve konjugatif plazmit içeren *E. coli* izolatları.

|                       | İzolatlar                                                                                                                                                                                                                                               | n  |
|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>qnrA</i>           | -                                                                                                                                                                                                                                                       | 0  |
| <i>qnrB</i>           | -                                                                                                                                                                                                                                                       | 0  |
| <i>qnrS</i>           | -                                                                                                                                                                                                                                                       | 0  |
| <i>aac-(6')-Ib-cr</i> | Ec1, Ec6, Ec8, Ec15, Ec16, Ec20, Ec22, Ec32, Ec42, Ec44, Ec61, Ec62, Ec64, Ec66, Ec67, Ec68, Ec70, Ec82, Ec88, Ec90, Ec97, Ec108, Ec109, Ec115, Ec116, Ec126, Ec130, Ec131, Ec132, Ec140, Ec146, Ec147, Ec148, Ec151, Ec156, Ec161, Ec164, Ec173, Ec174 | 39 |
| konjugatif plazmit    | Ec15, Ec20, Ec22, Ec64, Ec82, Ec87, Ec104, Ec117, Ec131, Ec146                                                                                                                                                                                          | 10 |

Konjugatif plazmit taşıdığı belirlenen 10 transkonjugant hücrenin antibiyotik duyarlılık paternleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile araştırıldığında, bu hücrelerin yabantip *E. coli* hücrelerinde görülen direnç profil özelliklerini sergilediği tespit edildi (Tablo 4.3).

PCR ile transkonjugant hücrelerde *aac-(6')-Ib-cr* gen varlığı araştırıldığında ise 10 transkonjugant hücrenin sadece 7'sinin (Ec15, Ec20, Ec22, Ec64, Ec82, Ec131, Ec146) *aac-(6')-Ib-cr* geni taşıdığı tespit edildi. Konjugatif plazmit taşıdığı belirlenmiş olan yabantip Ec87, Ec104 ve Ec117 izolatlarında *aac-(6')-Ib-cr* geni tespit edilemediği gibi, bu izolatlardan aktarılan plazmitleri içeren transkonjugant *E. coli* J53-2 hücrelerinde de yine *aac-(6')-Ib-cr* geni tespit edilemedi (Tablo 4.3).

**Tablo 4.3.** Klinik *E. coli* izolatları ve transkonjugant *E. coli* J53-2 hücrelerinin antibiyotik direnç profilleri ve direnç genlerinin karşılaştırılması.

| İzolatlar | Antibiyotik direnç profilleri                        |                                                          | Direnç genleri       |                                                          |
|-----------|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|----------------------|----------------------------------------------------------|
|           | Yaban tip                                            | Transkonjugant hücre<br>( <i>E. coli</i> J53-2+ plazmit) | Yabantip             | Transkonjugant hücre<br>( <i>E. coli</i> J53-2+ plazmit) |
| Ec15      | AMP, CXM, CTX, CRO, CAZ, ATM, NA, OFX, CIP           | AMP, CXM, CTX, CRO, CAZ, ATM, NA, OFX, CIP               | <i>aac(6')-Ib-cr</i> | <i>aac(6')-Ib-cr</i>                                     |
| Ec20      | AMP, AMC, CXM, CTX, CRO, CAZ, ATM, NA, OFX, CIP, GN  | AMP, AMC, CXM, CTX, CRO, CAZ, ATM, NA, OFX, CIP, GN      | <i>aac(6')-Ib-cr</i> | <i>aac(6')-Ib-cr</i>                                     |
| Ec22      | AMP, CXM, CTX, CRO, CAZ, FEP, ATM, NA, OFX, CIP      | AMP, CXM, CTX, CRO, CAZ, FEP, ATM, NA, OFX, CIP          | <i>aac(6')-Ib-cr</i> | <i>aac(6')-Ib-cr</i>                                     |
| Ec64      | AMP, CXM, CTX, CRO, CAZ, FEP, ATM, NA, OFX, CIP      | AMP, CXM, CTX, CRO, CAZ, FEP, ATM, NA, OFX, CIP          | <i>aac(6')-Ib-cr</i> | <i>aac(6')-Ib-cr</i>                                     |
| Ec82      | AMP, CXM, CTX, CRO, CAZ, ATM, NA, OFX, CIP           | AMP, CXM, CTX, CRO, CAZ, ATM, NA, OFX, CIP               | <i>aac(6')-Ib-cr</i> | <i>aac(6')-Ib-cr</i>                                     |
| Ec87      | AMP, CXM, CTX, CRO, CAZ, FEP, ATM, NA, OFX, CIP, GN  | AMP, CXM, CTX, CRO, CAZ, FEP, ATM, NA, OFX, CIP, GN      | -                    | -                                                        |
| Ec104     | AMP, AMC, CXM, CTX, CRO, CAZ, FEP, ATM, NA, OFX, CIP | AMP, AMC, CXM, CTX, CRO, CAZ, FEP, ATM, NA, OFX, CIP     | -                    | -                                                        |
| Ec117     | AMP, CXM, CTX, CRO, CAZ, FEP, ATM, NA, OFX, CIP, GN  | AMP, CXM, CTX, CRO, CAZ, FEP, ATM, NA, OFX, CIP, GN      | -                    | -                                                        |
| Ec131     | AMP, AMC, CXM, CTX, CRO, NA, OFX, CIP                | AMP, AMC, CXM, CTX, CRO, NA, OFX, CIP                    | <i>aac(6')-Ib-cr</i> | <i>aac(6')-Ib-cr</i>                                     |
| Ec146     | AMP, CXM, CTX, CRO, CAZ, FEP, ATM, NA, OFX, CIP, GN  | AMP, CXM, CTX, CRO, CAZ, FEP, ATM, NA, OFX, CIP, GN      | <i>aac(6')-Ib-cr</i> | <i>aac(6')-Ib-cr</i>                                     |

AMP: Ampisilin, AMC: Amoksisilin/Klavunolik Asit, CXM: Sefuroksim (II. Kuşak Sefalosporin), CTX: Sefotaksim (III. Kuşak Sefalosporin), CRO: Seftriakson (III. Kuşak Sefalosporin), CAZ: Seftazidim (III. Kuşak Sefalosporin), FEP: Sefepim (IV. Kuşak Sefalosporin), ATM: Aztreonam, NA: Nalidiksik asit, OFX: Ofloksasin, CIP: Siproflaksasin, GN: Gentamisin.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde tercih edilen antibakteriyellerin çeşidi, uygulama sıklığı, süresi ve dozajı ülkelere, bölgelere ve sağlık merkezlerine göre değişkenlik göstermekle birlikte antibiyogram sonuçları beklenmeden geniş spektrumlu antibiyotikler ile ampirik olarak tedaviye başlanması, aşırı ve bilinçsiz antibiyotik kullanımı tüm dünyada yaygın olarak rastlanan bir durumdur. Bu yaklaşım ise antibiyotiklerin seçici baskısı ile enfeksiyon etkenlerinin kullanılan antibiyotiklere hızla direnç kazanmasına ve bu ilaçların klinikte günden güne etkisiz hale gelmesine neden olmaktadır. Dünya genelinde, direnç gelişiminin kontrol altına alınabilmesi için ulusal, bölgesel ve hastaneler bazında düzenli olarak epidemiyolojik çalışmalar yapılarak antimikrobiyal direnç profillerinin takip edilmesi ve raporlanması önem arz etmektedir (Akalin, 2011; Choi ve diğ., 2012; CDC, 2019).

Son yıllarda, birden fazla antibakteriyel ilaca dirençli hale gelen ve GSBL üreten gram-negatif *Enterobacteriaceae* türlerinin dünya genelinde hızla yayılmakta olduğu ve bu durumun halk sağlığı açısından ciddi bir tehdit oluşturduğu rapor edilmektedir (Huh ve diğ., 2013; Redgrave ve diğ., 2014; Aslam ve diğ., 2018; CDC, 2019). Gram-negatif enterik bakterilerin üyesi olan *E. coli*, aslında sağlıklı insanların ve hayvanların bağırsak florasında yaşayan komensal bir basildir. Öte yandan *E. coli* çeşitli nedenlerle idrar yolu, mesane ve dolaşım sistemi gibi bağırsak dışı organlara ve farklı konaklara geçtiğinde hastalık etkeni olabilen fırsatçı bir patojendir. Özellikle ishalleri bağırsak enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, peritonit, mastit, pnömoni, sepsis ve yenidoğan menenjit gibi ciddi hastalıkların başlıca sorumlusudur (Fındık, 2008; Murray ve diğ., 2010).

Dünyada ve ülkemizde gerek toplum gerekse hastane kaynaklı enfeksiyonlardan en sık izole edilen bakteriler arasında ilk sırayı alan gram-negatif etkenin *E. coli* olduğu ve izolatların çoğunlukla idrar kültürlerinden elde edildiği bildirilmektedir (Ling ve diğ., 2006; Arslan ve diğ., 2007; Bean ve diğ., 2008; Murray ve diğ., 2010; Yılmaz ve diğ., 2016; Hamed ve diğ., 2018; Azeez ve diğ., 2018; Şahin ve Altan, 2019; Duran ve diğ., 2022; Baran ve Küçükcan, 2022). Gerçekleştirdiğimiz tez çalışmasında kullanılan 59 *E. coli* izolatının %76,3'ü idrar, %11,8'ü kan, %8,5'i yara ve %3,4'ü trakeal aspirat kültürlerinden izole edilmiştir ve hastanemizde idrar kökenli izolatların oran olarak ilk sırada oluşu dünya ve ülkemiz verileri ile uyum göstermektedir.

*E. coli* enfeksiyonlarının tedavisinde en sık kullanılan antibiyotikler aminoglikozitler,  $\beta$ -laktam antibiyotikler, sefalosporinler ve kinolonlardır (CDC, 2019). Özellikle ampirik tedavi nedeniyle bu antibiyotiklere yüksek direnç gösteren ve ayrıca GSBL üreten *E. coli* izolatlarının tüm dünyada hızla yayılmaya devam ettiği CDC'nin 2019 yılı antibiyotik direnç tehditleri raporunda yer almaktadır ve bu durumun tedavi seçeneklerini kısıtlayan ve tedavi maliyetini ise giderek arttıran çok ciddi bir sağlık sorunu olduğu bildirilmektedir (CDC, 2019).

Dünya genelinde ve ülkemizde, *E. coli* izolatlarında antibiyotiklere direncin belirlenmesi amacıyla yapılan çok sayıda araştırmanın sonuçlarına göre yakın gelecekte *E. coli* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmakta olan antibiyotiklerin yetersizliği ile karşı karşıya kalmamız söz konusudur (Arslan ve diğ., 2007; Serefhanoglu ve diğ., 2009; Roberts ve diğ., 2010; Tadesse ve diğ., 2012; Hamed ve diğ., 2018; Azeez ve diğ., 2018; Şahin ve Altan, 2019; Kourtis ve diğ., 2021; Duran ve diğ., 2022; Baran ve Küçükcan, 2022).

Bu kapsamda, tez çalışmamızda 59 siprofloksasin dirençli *E. coli* izolatının CLSI tarafından önerilen ve tedavide en sık kullanılan antibiyotiklere karşı duyarlılıkları da incelenmiştir. Siprofloksasin (CIP) direnci yanı sıra *E. coli* izolatlarının tamamının (%100) ampisilin'e (AMP), sefuroksim'e (CXM), sefotaksim'e (CTX), seftriakson'a (CRO), nalidiksik asit'e (NA) ve ofloksasin'e (OFX) karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. İzolatların 52'sinin (%88,13) ise seftazidim'e (CAZ), 50'sinin (%84,74) aztreonam'a (ATM), 22'sinin (%37,28) sefepim'e (FEP), 16'sının (%27,11) amoksisilim-klavulanik asit'e (AMC) ve 15'inin (%25,42) gentamisin'e (GN) karşı dirençli olduğu belirlenirken, yalnızca imipenem (IMP), meropenem (MEM) ve amikasin (AK) antibiyotiklerine karşı duyarlı oldukları tespit edilmiştir. İzolatlardan tümünün (%100) en az 3 farklı antibiyotik grubuna karşı direnç taşıdıkları ve çoklu ilaç direncine sahip oldukları saptanmıştır. *E. coli* izolatlarında saptadığımız antibiyotik direnç oranları ulusal ve uluslararası sonuçlarla benzerlik göstermektedir ve hastanemiz açısından sorun oluşturacak boyuttadır. Bu tespitimiz, hastanemizde dolaşan *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılığının düzenli olarak izlenmesinin ihmal edilmemesi gerektiğini ve reçete edilecek antibiyotiklerin dikkatle seçilmesinin önemini ortaya koymaktadır.

Kinolonlar sentetik olarak üretilen bir antibiyotik grubudur. Molekülün temel çatısını oluşturan iki halkalı çekirdek yapısının yan zincirler eklenmeye olanak vermesi sayesinde

geniş etki spektrumuna sahip, biyoyararlanımı oldukça yüksek ve yan etkisi düşük olan çok sayıda yeni kuşak kinolonlar sentezlenebilmiş ve özellikle florokinolonlar son yılların en popüler antibiyotik sınıfı haline gelmiştir. Öte yandan, kinolonların birçok enfeksiyonun tedavisinde yaygın olarak ve özellikle ampirik kullanımı direnç sorununu da beraberinde getirmiştir. (Leblebicioğlu, 2002; Hooper ve Strahilevitz, 2010; Günal ve Erdem, 2014; Rusu ve diğ., 2021).

Bakteriyel DNA sentezini inhibe etmek suretiyle bakteriyosidal etki gösteren kinolon grubu antibiyotiklere karşı direnç gelişiminde rol alan ikisi kromozomal, biri ise plazmit kaynaklı olan üç farklı mekanizma mevcuttur. Kromozomal kaynaklı mekanizmalardan birincisi bakteri hücresinde kinolonların hedefi olan DNA topoizomeraz enzimlerini kodlayan genlerde meydana gelen mutasyonlarla kinolon-enzim etkileşiminin önlemesi ile ikincisi ise membran geçirgenliğinde rol oynayan porin proteinlerinin üretimini azaltan ve/veya aktif dışa atım pompa proteinlerini aktive eden mutasyonlarla hücre içinde kinolon birikiminin engellenmesi ile gerçekleşmektedir. Kromozomal kinolon direnç genleri dirençli bakterinin yalnızca yeni kuşaklarına “dikey geçiş” ile aktarılır ve bu tip direncin yayılım hızı nispeten sınırlıdır. Üçüncü direnç mekanizması plazmit kaynaklıdır ve *qnr* genleri, *aac(6')-Ib-cr* geni ve *qepA/oqxAB* genleri olmak üzere üç farklı gen ailesinin kodladığı plazmit aracılı direnç determinantları bakteride kinolonlara duyarlılığın azalmasına neden olmaktadır. Plazmit aracılı kinolon direnç genleri eğer konjugatif özellik taşıyan plazmitler üzerindeyse konjugasyon yoluyla dirençli bakteriden hem tür içi hem de türler ve cinsler arası “yatay geçiş” ile aktarılabilir ve bu yüzden yayılımı da kromozomal kaynaklı dirence kıyasla çok daha hızlı gerçekleşmektedir (Jacoby, 2005; Hasdemir, 2007; Nazık ve Öngen, 2010; Hooper ve Strahilevitz, 2010; Aldred ve diğ., 2014; Azargun ve diğ., 2020).

Plazmit aracılı *qnr* genlerinin kodladığı Qnr proteinlerinin (QnrA, QnrB, QnrC, QnrD, QnrE, QnrS ve QnrVC) bakteriyel DNA giraz ve topoizomeraz IV'e bağlanarak bu enzimlerin kinolonlar tarafından inhibisyonunu engellediği, *aac(6')-Ib-cr* geninin kodladığı modifiye AAC(6')-Ib-cr enziminin siprofloksasin ve norfloksasin gibi çeşitli florokinolonları asetilleyerek antibakteriyel aktivitelerini azalttığı ve aktif dışa atım pompa *oqxAB* genlerinin kodladığı OqxAB proteinlerinin ve *qepA* genin kodladığı QepA proteinin ise kinolonların hücrede birikimini azalttığı saptanmıştır (Martínez-Martínez ve diğ., 1998; Sørensen ve diğ., 2003; Hansen ve diğ., 2004; Jacoby, 2005; Nordmann ve Poirel, 2005; Hata ve diğ., 2005;

Robicsek ve diğ., 2006; Yamane ve diğ., 2007; Fonseca ve diğ., 2008; Rodríguez-Martínez ve diğ., 2011; Seija ve diğ., 2015; Albornoz ve diğ., 2017).

Plazmit aracılı kinolon direnç determinantlarının, bakteride tek başlarına bulunduğunda düşük düzeyde kinolon direnci oluşturduğu gösterilmiştir. Ancak kinolon tedavisinde uygulanan dozlarda izolatlarda kromozomal mutasyonları tetikledikleri ve bu durumun yüksek düzey kinolon direncinin ortaya çıkmasına yol açarak tedaviyi zorlaştırdığı belirlenmiştir. Ayrıca, söz konusu direnç genlerinin genellikle konjugatif plazmitler üzerinde bulunması nedeniyle bakteriler arasında konjugasyon yoluyla kinolon direncinin hızlı bir şekilde yayılmasında önemli rol oynadığı bilinmektedir (Li, 2005; Nazik ve Öngen, 2010; Aldred ve diğ., 2014; Jacoby, 2017; Azargun ve diğ., 2020).

*E. coli* izolatlarında plazmit aracılı kinolon direnç genlerinin bulunduğu ve bu genlerin tedavide yaygın olarak kullanılan kinolonların MİK'lerinde artışa neden olarak etkinliğini sınırlayan önemli bir faktör olduğu yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir. Daha önemlisi, bazı çalışmalarda *qnr*, *aac(6')-Ib-cr* ve *qepA* genleri yanısıra GSBL üreten ve kinolon dışı çoklu ilaca direnç genleri taşıyan konjugatif plazmidlerin saptanmış olması bu genlerin daha hızlı yayılım göstereceğini ve gelecekte mevcut kinolonlar ile tedavinin imkansız hale gelebileceğini işaret etmektedir (Park ve diğ., 2006; Jiang ve diğ., 2008; Kang ve diğ., 2009; Nazik ve diğ., 2009; Nazik ve diğ., 2011).

Bu yüzden toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyon etkenleri arasında ilk sırada olan *E. coli*'de plazmit aracılı kinolon direnç genlerinin hastanelerdeki prevalansının belirlenmesi ve raporlanması plazmit kaynaklı kinolon direncinin hem ulusal düzeyde hem de dünya çapında yayılımının kontrol altına alınması için gereklidir (Aktepe ve diğ., 2012; Poirel ve diğ., 2008; Nazik ve Öngen, 2010; Pazarlı ve diğ., 2017; Azeez ve diğ., 2018).

Bu tez çalışmasında amacımız, hastanemizde çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş, tanımlanmış ve saklamaya alınmış 59 siprofloksasin dirençli *E. coli* izolatında plazmit aracılı kinolon direnç determinantlarından en yaygın olan *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* ve *aac(6')-Ib-cr* genlerinin varlığının ve aktarılabiliirliğinin araştırılmasıdır. Gerçekleştirdiğimiz tez, hastanemiz *E.coli* izolatlarında bu direnç genlerinin araştırıldığı ilk çalışma olma özelliği de taşımaktadır. PCR analizi sonucunda, araştırdığımız dört gen arasında sadece *aac-(6')-Ib-cr* pozitifliği saptanmış ve 59 izolatın 39'unda (%66.1) bulunan *aac-(6')-Ib-cr* geninin prevalansının oldukça yüksek olduğu gözlenmiştir. Öte yandan, 59 izolatın hiçbirinde

(%100) *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* genleri tespit edilmemiştir. Plazmit aracılı *qnr* genlerinin oldukça yüksek dizi değişkenliği (*qnrA*, %94 ila %99; *qnrB*, %85 ila %99 ve *qnrS*, %90) gösterdiği bilinmektedir (Azargun ve diğ., 2020). Kullandığımız primerler ise *qnrA1-qnrA6*, *qnrB1-qnrB6* ve *qnrS1-qnrS2* varyantlarına özgüdür ve çalışmamız bu varyantlar bakımından izolatların negatif olduğunu ortaya koymuştur.

Türkiye’de *qnrA* geni ilk kez bir *Citrobacter freundii* ve bir *Enterobacter cloaceae* klinik izolatında 2005 yılında saptanmıştır (Nazik ve diğ., 2005). Ülkemizde 2005 yılından bu yana literatür tarandığında, klinik *E. coli* izolatlarında plazmit aracılı kinolon direnç genlerinin araştırıldığı çalışmaların sayısının oldukça sınırlı olduğu görülmektedir.

2008 yılında Nazik ve arkadaşları yoğun bakım hastalarından izole edilen 347’si klinik örnek ve 113’ü rektal sürüntü örneğinden oluşan toplam 460 gram-negatif bakteride *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* genlerini araştırdıkları çalışmada, 3 (%0,65) *E. cloaceae* izolatının ikisinde *qnrS* ve birinde ise *qnrB* geni saptamış ancak çalışmada yer alan 117 *E. coli* izolatında araştırılan *qnr* genlerinden herhangi birine rastlamamışlardır (Nazik ve diğ., 2008). Aynı yıl, Türkiye’deki farklı hastanelerden izole edilmiş ve GSBL üreten 138 *E. coli* ve 110 *K. pneumoniae* izolatıyla yaptıkları çalışmada, Poirel ve arkadaşları *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* ve *aac(6’)-Ib-cr* genlerinin varlığını araştırmışlardır. Bir *K. pneumoniae* izolatında farklı plazmitler üzerinde *qnrB1* ve *aac(6’)-Ib-cr* genlerini saptarken, *E. coli* izolatlarının hiçbirinde *qnr* gen pozitifliği tespit edilmemiştir. GSBL üreten izolatların (n:50) %78’inde ise *aac(6’)-Ib-cr* geni bulunmuştur (Poirel ve diğ., 2008b). Öktem ve arkadaşlarının yine 2008’deki çalışmasında kan kültürlerinden izole edilen kinolon dirençli 34 *E. coli* ve 44 *K. pneumoniae* suşlarından oluşan 78 suşta *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* genleri incelendiğinde, dört *K. pneumoniae* ve bir *E. coli* suşunda yalnızca *qnrA* geni saptanmıştır (Öktem ve diğ., 2008).

2009 yılında ise Nazik ve arkadaşları 1044 kinolon dirençli klinik izolatta (694 *E. coli*, 243 *K. pneumoniae*, 37 *Acinetobacter* spp., 29 *Pseudomonas* spp., 18 *Klebsiella oxytoca*, 15 *Enterobacter* spp., 7 *Stenotrophomonas maltophilia* ve 1 *Salmonella* spp) *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* ve *aac(6’)-Ib-cr* genlerinin prevalansını araştırmışlardır. Toplam olarak 20 (%1,9) izolatta saptanan *qnr* genlerinin dağılımının 8 *qnrA* (4 *enterobacter* spp., 3 *E. coli*, 1 *K. pneumoniae*), 8 *qnrB* (6 *K. pneumoniae* ve 2 *E. coli*) ve 4 *qnrS* (2 *K. pneumoniae*, 1 *E. coli* ve 1 *enterobacter* spp.) şeklinde olduğu belirlenmiştir. Bu *qnr* pozitif 20 izolat arasında ise 2

*qnrB* pozitif *K. pneumoniae* ve 1 *qnrA* pozitif *E.coli*'nin *aac(6')-Ib-cr* geni taşıdığı tespit edilmiştir (Nazik ve diğ., 2009).

2012 yılına ait bir çalışmada, 112 kinolon dirençli klinik *E. coli* izolatında *qnrA*, *qnrB*, *qnrC* ve *qnrS* genleri ile *qepA* ve *aac(6')-Ib-cr* genlerini araştıran Aktepe ve arkadaşları suşların hiç birinde *qnr* ve *qepA* genleri saptamazken, çalışılan suşlarda %59.8 oranında *aac(6')-Ib-cr* gen varlığı tespit etmiştir (Aktepe ve diğ., 2012). Yine 2012'de Çoban ve arkadaşları, plazmid aracılı kinolon direncini saptamak amacıyla Türkiye'nin dört farklı bölgesinden toplanan *Enterobacteriaceae* ailesine ait 647 klinik izolat ile gerçekleştirdikleri çalışmada yalnızca 10 izolatta *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* genlerinin varlığını (*qnrA* %0.3, *qnrB* %0.9 ve *qnrS* %0.4) saptamışlardır. Çalışma kapsamında araştırılan 462 *E. coli* izolatının 3'ünün *qnrS* geni ve 2'sinin ise *qnrB* geni taşıdığı ve bu genlerin sıklığının düşük olduğunu belirtmişlerdir (Çoban ve diğ., 2012). Hoşgör-Limoncu ve arkadaşları da 2012'de GSBL pozitif toplam 192 (124 *E. coli* ve 68 *K. pneumoniae*) izolat ile gerçekleştirdikleri çalışmada, nalidiksik asit ve/veya siprofloksasin dirençli bulunan 133 (106 *E. coli* ve 27 *K. pneumoniae*) izolatta *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qepA* ve *aac(6')-Ib-cr* genlerini araştırmışlardır. *E. coli* suşlarında tespit edilen *qnrB* ve *qnrS* genlerinin oranları sırasıyla %1,8 ve %0,9 olarak; *K. pneumoniae* suşlarında tespit edilen *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* genlerinin oranları sırasıyla %7,4, %11,1 ve % 3,7 olarak saptanmıştır. *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında *aac(6')-Ib-cr* gen oranları ise sırasıyla %40,5 ve %59,3 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada 106 *E. coli* izolatında *qepA* gen oranının da %0,9 olduğu görülmüştür (Hoşgör-Limoncu ve diğ., 2012).

2014 yılında, kan kültürlerinden izole edilmiş nalidiksik asit ve/veya siprofloksasin dirençli toplam 85 (72 *E. coli* ve 13 *Klebsiella* spp.) izolatın kullanıldığı bir tez çalışması yapılmıştır. Sonuçlar *E. coli* izolatlarında araştırılan plazmit aracılı direnç genlerinin prevalanslarının *qnrA* %1.4, *qnrB* %4.2, *qnrS* %1.4, *aac(6')-Ib-cr* %41.7, *qepA* %1.4 ve *oqxAB* %1.4 olduğunu göstermiştir (Öztel Ocak, 2014).

2015'te ise kinolonlara azalmış duyarlılık ve direnç gösteren 50 *E. coli* izolatında plazmid aracılı kinolon direnç genleri *qnrA*, *qnrB*, *qnrC* ve *qnrS*'in ve kromozomal *gyrA* ve *parC* genlerindeki mutasyonların araştırıldığı diğer bir tez çalışmasında, plazmid aracılı genlerden sadece *qnrS*'nin saptanmış ve görülme oranının ise %20 olduğu bildirilmiştir (Taşkın, 2015).

Buruk ve arkadaşları 2016'da yaptıkları bir çalışmada, Ocak 2012-Ağustos 2013 tarihleri arasında kan kültürlerinden izole edilen kinolona dirençli 127 *E. coli* ve 66 *Klebsiella* spp.

izolatlarında *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrS*, *qnrD*, *aac(6')-Ib-cr*, *qepA* ve *oqxAB* plazmit aracılı kinolon direnç genlerinin varlığını araştırmışlardır. Direnç genlerinin prevalansları kinolona dirençli *E.coli* ve *Klebsiella* spp. izolatlarında sırasıyla, *qnrA*, %1.4 ve %15.4; *qnrB*, %4.2 ve %61.5; *qnrS*, %1.4 ve %7.7; *qepA*, %1.4 (sadece *E.coli*); *aac(6')-Ib-cr*, %38.9 ve %92.3; ve *oqxAB*, %1.4 ve %84.6 olarak belirlenmiştir. İzolatların hiçbirinde *qnrC* ve *qnrD* genleri saptanmamıştır (Buruk ve diğ., 2016).

2017 yılında, Şubat-Ağustos 2009 tarihleri arasında izole edilen ve nalidiksik asite dirençli/orta duyarlı bulunan 265 *Escherichia coli*, 33 *Klebsiella pneumoniae* ve 2 *Klebsiella oxytoca* izolatında PCR yöntemi ile *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *aac(6')-Ib* genlerinin varlığı Pazarlı ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır. İncelenen izolatların hiç birinde *qnr* (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*) geni bulunmazken, *E. coli* izolatlarının 99'unda (% 37,4), *K. pneumoniae* izolatlarının 4'ünde (% 12,1) *aac(6')-Ib* geni saptanmıştır. *aac(6')-Ib* pozitif olan izolatlarda *aac(6')-Ib-cr* varyantları BtsCI restriksiyon enzimi ile araştırıldığında, *E. coli* izolatlarının 97'sinin (%98) *aac(6')-Ib-cr* varyantı oldukları belirlenmiştir (Pazarlı ve diğ., 2017).

2018'de Azeez ve arkadaşları da plazmit aracılı *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrS*, *qepA* ve *aac(6')-Ib-cr* genlerini Ocak 2013-Aralık 2013 yıllarına ait 115 *E. coli* izolatında PCR ile araştırmışlardır. İzolatların 3'ünde (%2.6) *qnrB*, 9'unda (%7.8) *qnrS* ve 50'sinde (%43.5) *aac(6')-Ib-cr* genleri saptanırken, hiçbirinde *qnrA*, *qnrC* ve *qepA* genleri tespit edilmemiştir (Azeez ve diğ., 2018).

2022'de ise Tanrıverdi Çaycı ve arkadaşlarının karbapenem dirençli 154 Enterobakter izolatında *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD* ve *qnrS* genlerinin varlığını araştırdıkları bir çalışmada, 14 *E. coli* suşundan birinde *qnrS* ve diğer birinde ise hem *qnrB* hem de *qnrS* pozitifliği saptanmıştır (Tanrıverdi Çaycı ve diğ., 2022).

Ülkemizde yapılan bu çalışmalardaki *qnr* ve *aac(6')-Ib-cr* genlerinin görülme sıklığına ilişkin değerler Tablo 5.1'de verilmiştir. Bu çalışmaların hepsinde *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* genleri araştırılırken, bir kısmında ise ek olarak *qnrC*, *qnrD* ve *aac(6')-Ib-cr* genleri de çalışılmıştır (çalışma dışı genler tabloda \* ile belirtilmiştir). Plazmit aracılı *qnr* determinantlarına baktığımızda, dört çalışmada *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* genlerinin hiçbir izolatta saptanmadığı görülmektedir (Nazik ve diğ., 2008; Poirel ve diğ., 2008; Aktepe ve diğ., 2012; Pazarlı ve diğ., 2017). Bu çalışmalar ile uyumlu olarak, tez çalışmamızda da test edilen 59 izolatın bu genleri taşımadığı tespit edilmiştir.

**Tablo 5.1.** Türkiye’de yapılan bazı çalışmalarda *E. coli* izolatlarında *qnr* ve *aac(6’)-Ib-cr* genlerinin prevalansı.

| Kaynak                         | İncelenen direnç geni<br>izolat sayısı | <i>qnrA</i> | <i>qnrB</i> | <i>qnrC</i> | <i>qnrD</i> | <i>qnrS</i>  | <i>aac(6’)-Ib-cr</i> |
|--------------------------------|----------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|----------------------|
|                                |                                        | n<br>(%)    | n<br>(%)    | n<br>(%)    | n<br>(%)    | n<br>(%)     | n<br>(%)             |
| Nazik ve ark., 2008            | 117                                    | 0           | 0           | *           | *           | 0            | *                    |
| Poirel ve ark., 2008           | 138                                    | 0           | 0           | *           | *           | 0            | Belirtilmemiş        |
| Öktem ve ark., 2008            | 34                                     | 1<br>(2.9)  | 0           | *           | *           | 0            | *                    |
| Nazik ve ark., 2009            | 694                                    | 3<br>(0.4)  | 2<br>(0.3)  | *           | *           | 1<br>(0.14)  | 1<br>(0.14)          |
| Aktepe ve ark., 2012           | 112                                    | 0           | 0           | 0           | *           | 0            | 67<br>(59.8)         |
| Çoban ve ark., 2012            | 462                                    | 0           | 2<br>(0.43) | *           | *           | 3<br>(0.65)  | *                    |
| Hoşgör-Limoncu ve ark., 2012   | 106                                    | 0           | 2<br>(1.88) | *           | *           | 1<br>(0.94)  | 43<br>(40.5)         |
| Öztel Ocak, 2014               | 72                                     | 1<br>(1.4)  | 3<br>(4.2)  | *           | *           | 1<br>(1.4)   | 30<br>(41.7)         |
| Taşkın, 2015                   | 50                                     | 0           | 0           | 0           | *           | 10<br>(20.0) | *                    |
| Buruk ve ark., 2016            | 127                                    | 2<br>(1.4)  | 6<br>(4.2)  | 0           | 0           | 2<br>(1.4)   | 49<br>(38.9)         |
| Pazarlı ve ark., 2017          | 265                                    | 0           | 0           | *           | *           | 0            | 97<br>(36.6)         |
| Azeez ve ark., 2018            | 115                                    | 0           | 3<br>(2.6)  | 0           | *           | 9<br>(7.8)   | 50<br>(43.5)         |
| Tanrıverdi Çaycı ve ark., 2022 | 14                                     | 0           | 1<br>(7.1)  | 0           | 0           | 2<br>(14.3)  | *                    |

\* Çalışma kapsamı dışındaki direnç geni.

Tez çalışmamızın sonuçlardan farklı olarak, dokuz çalışmada ise *qnr* gen pozitifliği taşıyan izolatlar saptanmıştır (Öktem ve diğ., 2008; Nazik ve diğ., 2009; Çoban ve diğ., 2012; Hoşgör-Limoncu ve diğ., 2012; Öztel Ocak, 2014; Taşkın, 2015; Buruk ve diğ., 2016; Azeez ve diğ., 2018; Tanrıverdi Çaycı ve diğ., 2022). Bu çalışmaların sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, *qnrA*’nın %0.4 ile %2.9, *qnrB*’nin %0.3 ile %7.1 ve *qnrS*’in %0.14 ile %20 arasında değişen sıklıkta saptandığı ve ülkemizde prevalansı en yüksek olan genin *qnrS* olduğu, ikinci sırada *qnrB*’nin yer aldığı ve en az rastlanan genin ise *qnrA* görülmektedir. Genel olarak, *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* genlerinin prevalansının çok yüksek olmamakla birlikte

ülkemizde de yayılmakta olduğunu ve düşük düzeyde olsa da kinolon direncine katkısının bulunduğunu söylemek mümkündür. Ülkemizde plazmit aracılı *qnrC* ve *qnrD* genlerinin araştırıldığı çalışmalarda izolatların hiçbirinde bu genler saptanmamıştır (Aktepe ve diğ., 2012; Taşkın, 2015; Buruk ve diğ., 2016; Azeez ve diğ., 2018; Tanrıverdi Çaycı ve diğ., 2022).

Dünya genelinde, gerek *Enterobacteriaceae* üyelerini kapsayan çalışmalarda gerekse sadece *E. coli* izolatları ile yapılan araştırmalarda *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* varlığı ve prevalanslarına bakıldığında, global bir yayılım gösterdikleri ancak ülkeler bazında bu genlerin görülme oranlarının Türkiye'deki gibi hayli değişken olduğunu görmekteyiz. Çalışmaların dünyanın farklı bölgelerinde, tarihlerde, kökenleri ve muhtemelen kinolon direnç paternleri farklı *E. coli* izolatları ile yapılmış olması bu değişkenliğe neden olabilecek önemli faktörlerdir.

Tez çalışmamızdaki *qnr* analiz sonuçları ile uyumlu olarak, Hindistan'da 73 *Enterobacteriaceae* ile yapılan güncel bir çalışmada, 16 *E. coli* izolatının *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* genlerinden hiçbirini taşımadığı saptanmıştır (Mitra ve diğ., 2019). Diğer yandan, toplam *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* pozitifliği; Jamaika'da %30.2 (Stephenson ve diğ., 2010), Mısır'da %26.6 (Hassan ve diğ., 2012), Macaristan'da %11.1 (Szabó ve diğ., 2018), İran'da %42.1 (Azargun ve diğ., 2018), Romanya'da %16.9 (Doma ve diğ., 2020), Nijerya'da %5.26 (Ayabola ve diğ., 2021) olarak tespit edilmiştir. Çin'de toplam *qnrB* ve *qnrS* pozitifliği %6.5 (Yang ve diğ., 2008) bulunurken, 13 Avrupa ülkesinden *E. coli* izolatlarının kullanıldığı bir çalışmada ise bu oranının %6.0 (Veldman ve diğ., 2011) olduğu bildirilmektedir. İspanya'da ise sadece *qnrA* ve *qnrS* genleri tespit edilmiş olup, toplam prevalansın %1.12 olduğu belirtilmektedir (Briales ve diğ., 2012). Kanada ve Kore'de yapılan çalışmalarda sadece *qnrS* pozitifliği saptanmıştır ve oranlar sırasıyla %0.8 (Pitout ve diğ., 2008) ve %2.5 (Yang ve diğ., 2014) olarak bildirilmiştir. İki ülkeden rapor edilen çalışmalarda sadece *qnrB* pozitifliği tespit edilmiş, Meksika'da prevalans %13.6 (Silva-Sanchez ve diğ., 2013) ve İran'da ise %6.25 (Majlesi ve diğ., 2018) olarak kaydedilmiştir. Tez çalışmamız kapsamında olmayan ve Türkiye'de yapılan çalışmalarda da rastlanmayan *qnrC* ve *qnrD* genleri ise İran'da tespit edilmiş olup, toplam *qnrC* ve *qnrD* pozitiflik oranının %16 olduğu bildirilmektedir (Azargun ve diğ., 2018).

Diğer bir plazmit aracılı kinolon direnç determinantı olan aminoglikozit asetil transferaz enzimini kodlayan *aac (6')-Ib-cr* geni ise ilk kez 2006'da tanımlanmıştır. Bu enzim,

norfloksasin ve siprofloksasinin piperazinil halkasının amino azotunu asetilleyerek inaktivasyonuna ve sonuç olarak bu florokinolonlara duyarlılığın azalmasına neden olmaktadır. AAC(6')-Ib-cr enziminin tek başına düşük seviyeli bir direnç oluşturduğu ancak topoizomeraaz mutant suşların seçilmesine katkıda bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca AAC(6')-Ib-cr enzimi, Qnr determinantları birlikte bulunduğu hücrelerde MİK değerlerinde klinik açıdan anlamlı (3-4 katlık) bir artışa da yol açabilmektedir (Robicsek ve diğ., 2006; Park ve diğ., 2006).

Türkiye’de yapılan çalışmalara bakıldığında; 2009 yılındaki bir çalışmada *E. coli* izolatlarında *aac (6')-Ib-cr* geninin %0.14 gibi çok düşük oranda tespit edildiğini (Nazik ve diğ., 2009) ancak daha sonra gerçekleştirilen çalışmalarda prevalansının %36.6 ile %59.8 arasında değiştiğini ve bu çalışmaların hepsinde *qnr* genlerine kıyasla *aac (6')-Ib-cr*’nin çok daha yüksek oranda saptandığını görmekteyiz (Tablo 5.1). Tez çalışmamızda ise *aac-(6')-Ib-cr* genin prevalansı %66.1 olarak saptanmıştır. Söz konusu çalışmalarla kıyaslandığında, izolatlarımızda *aac-(6')-Ib-cr* görülme sıklığı nisbeten daha yüksektir. İzolatlarımızda saptanan kinolon direncinde *aac-(6')-Ib-cr* geninin de payı olduğunu ortaya koyan bu veri, hastanemizde *E. coli* kaynaklı enfeksiyonların ampirik tedavisinde kinolon grubu antibiyotiklerin güvenilir olmadığına bir göstergesidir.

Uluslararası kaynaklarda, *aac(6')-Ib-cr* taşıyan *E. coli* izolatlarının dünya genelinde çok geniş yayılım gösterdiği ve birçok çalışmada *qnr* genlerine kıyasla prevalansının daha yüksek olduğu görülmektedir. Farklı ülkelerden yapılan bildirimlere baktığımızda; *E. coli* izolatlarında *aac(6')-Ib-cr* prevalansının oldukça yüksek seviyelere ulaştığını bildiren çalışmalar yanı sıra *aac (6')-Ib-cr*’nin tespit edilmediği çalışmalara da rastlanmaktadır. Onüç Avrupa ülkesinin izolatlarıyla yapılan bir çalışmada (Veldman ve diğ., 2011) ve Nijerya’daki bir araştırmada (Ayabola ve diğ., 2021) *aac(6')-Ib-cr* pozitifliğini saptanmazken, Çin’de *aac(6')-Ib-cr* prevalansı %16.9 (Yang ve diğ., 2008), Kanada’da %17 (Pitout ve diğ., 2008), Amerika’da %32 (Park ve diğ., 2006), Norveç ve İsveç’te % 9.0 (Karah ve diğ., 2010), Mısır’da %23.3 (Hassan ve diğ., 2012), yine Mısır’da yapılan daha güncel bir çalışmada %55.8 (Abdel-Rhman ve diğ., 2021), İspanya’da %12.6 (Briales ve diğ., 2012), Arjantin’de %56.2 (Cruz ve diğ., 2013), Kore’de %73.8 (Yang ve diğ., 2014), İran’da bir çalışmada %17 (Majlesi ve diğ., 2018) ve diğer bir çalışmada ise %68.8 (Azargun ve diğ. 2018), Macaristan’da %1.0 (Szabó ve diğ., 2018), Hindistan’da %44 (Mitra ve diğ., 2019) olarak bildirilmektedir. Pek çok çalışmada ve tez çalışmamızda *aac-(6')-Ib-cr*’nin en

baskın plazmit aracılı gen olarak saptanması, bu genin *E. coli* izolatlarında kinolon direnç gelişiminde önemli ölçüde rolü olduğunu ve tüm dünyada düzenli olarak izlenmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Mobil genetik elementler olarak tanımlanan plazmitler, transpozonlar ve integronlar bakteriler arasında gen aktarımında önemli rol oynayan yapılardır (Bennett, 2008; von Wintersdorff ve diğ., 2016; Aslam ve diğ., 2018). Bunlar arasında, özellikle plazmitlerin konjugasyon yoluyla gerek tür içi gerekse farklı taksonomik bakteri grupları arasında yatay olarak aktarılabilir olması ve antibiyotik direnç genlerinin de genellikle plazmitler üzerinde bulunması birçok antibakteriyel ilaca direncin dünya çapında hızla yayılmasına neden olmaktadır (Carattoli, 2013). Yapılan çalışmalar, PMQR genlerinin çok sayıda, farklı boyut ve tipte plazmit üzerinde bulunabildiğini ve bu plazmitlerin çoğunun çoklu ilaç direncinden sorumlu olan geniş spektrumlu beta laktamaz (GSBL), karbepenemaz ve diğer direnç genlerini de taşıdığını ortaya koymuştur (Rodríguez-Martínez ve diğ., 2007; Strahilevitz ve diğ., 2009; Yang ve diğ., 2014).

Hastanemizde plazmit aracılı kinolon direncinin yayılması klinik açıdan önemli sonuçlar doğurabileceğinden, tez çalışmamızda *E. coli* izolatlarının %66.1'inde saptanan *aac(6')-Ib-cr* geninin aktarılabilirliği de araştırılmıştır. Gerçekleştirilen konjugasyon deneyleri sonucunda 59 *E. coli* izolatından 10'unun (%16.9) konjugatif bir plazmite sahip olduğu belirlenmiştir. On *E. coli* izolatından konjugatif plazmidlerin aktarıldığı *E. coli* J53-2 transkonjugant hücrelerin antibiyotik duyarlılık paternleri disk difüzyon yöntemi ile araştırılmış ve her transkonjugant hücrenin fenotipik olarak kendi yaban tip *E. coli* izolatı ile aynı antibiyotik direnç profili sergilediği tespit edilmiştir. Bu bulgu, söz konusu izolatlarda daha önce saptadığımız çoklu antibiyotik direncine neden olan özellikle beta laktam ve kinolon grubu antibiyotiklere direnci sağlayan GSBL ve PMQR genlerinin konjugatif plazmitler üzerinde bulunduğunu ortaya koymuştur. Konjugatif plazmitlerin *aac(6')-Ib-cr* geni taşıyıp taşımalarını belirlemek için transkonjugant hücrelerden plazmitler izole edilmiş ve *aac(6')-Ib-cr* geni çoğaltılmıştır. PCR sonucunda, 7 transkonjugant hücrenin *aac(6')-Ib-cr* pozitif, diğer 3 hücrenin ise negatif olduğunu tespit edilmiştir. Antibiyogram ve PCR bulgularını birlikte değerlendirdiğimizde, *aac(6')-Ib-cr* pozitif olan 7 izolatta bu geninin konjugatif plazmitler üzerinde yer almasına bağlı olarak aktarılabilirliği ve bu plazmitlerin çoklu antibiyotik direnci taşıdıkları anlaşılmaktadır. Öte yandan, *aac(6')-Ib-cr* negatif 3 izolattan konjugatif plazmitlerin aktarıldığı *E. coli* J53-2 transkonjugant hücrelerde

fenotipik olarak kinolon direnci saptanmasına rağmen, konjugatif plazmitlerde *aac(6')-Ib-cr* geni mevcut değildi. Bu gözlem ise bize bu 3 izolatın taşıdığı konjugatif plazmitlerin, diğer 7 izolatta bulunan *aac(6')-Ib-cr* geninden farklı kinolon direnç geni veya genlerine sahip olduğunu düşündürdü. Bu genlerin diğer plazmit aracılı *qnr* genleri (*qnrC* ve *qnrD*) ve aktif dışa atım (efflux) pompa genleri (*qepA*, *oqxA* ve *oqxB*) olması mümkündür. Özet olarak konjugasyon deney sonuçları, hastanemizde *aac(6')-Ib-cr* geninin klinik izolatlar arasında horizontal transferinin söz konusu olduğunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte, saptanan konjugatif plazmit taşıma oranının (%16.9) çok yüksek olmaması pozitif bir durum olup, *aac(6')-Ib-cr* geninin yayılımının nisbeten sınırlı olacağının bir göstergesidir.

Literatür incelendiğinde, çalışmamızda olduğu gibi dünya genelinde de *Enterobacteriace* türlerinde *aac(6')-Ib-cr* geninin, GSBL ve *qnr* genlerini de barındıran çoklu ilaç direncine sahip konjugatif plazmitler üzerinde yer aldığını gösteren ve bu genlerin birlikte yayılımının ciddi tedavi sorunlarına yol açabileceğini bildiren çok sayıda çalışma yapıldığı görülmektedir (Park ve diğ., 2006; Machado ve diğ., 2006; Iabadene ve diğ. 2008; Kang ve diğ., 2009; Nazik ve Öngen, 2010; Rodríguez-Martínez ve diğ., 2011; Pakzad ve diğ. 2011; Yang ve diğ., 2015; Bado ve diğ., 2016; Jena ve diğ., 2017; Azargun ve diğ., 2018).

İleride yapılacak çalışmalarla 59 *E. coli* izolatının *qnrC* ve *qnrD* genleri ve aktif dışa atım (efflux) pompa genleri *qepA*, *oqxA* ve *oqxB*'yi taşıyıp taşımadıkları araştırılarak tüm plazmid aracılı determinanter belirlenebilir. Bunun yanında, kinolonların ana hedefi olan DNA giraz ve topoizomera IV enzimlerini kodlayan genlerde olası mutasyonların da tespiti ile bu izolatlarda kinolon direncine neden olan genetik faktörlerin kapsamlı olarak tanımlanması hem klinik açıdan hem de literatüre katkısı bakımından faydalı olacaktır. Yine çalışmamızda saptanan konjugatif plazmitlerin ilerleyen zamanda tüm DNA dizin analizi yapıldıktan sonra gen bankası verileriyle kıyaslanmak suretiyle *aac(6')-Ib-cr* geninin integron gen kaseti içerisinde yer alıp almadığı ve ayrıca GSBL genleri ile ilişkisinin araştırılması kuşkusuz önemli bilgiler sağlayacaktır.

Sonuç olarak, dünya genelinde kinolon direncinin kontrol altına alınması ve dirençli bakteri sayısının minimize edilebilmesi için ampirik tedavide özellikle dar spektrumlu antibiyotik kullanımının tercih edilmesi ve hastaların doğru antibiyotik kullanımı hususunda bilinçlendirilmesi gibi tedbirler alınmalıdır. Son yıllarda, plazmid aracılı kinolon direnç determinantlarının da tedavide kinolonların etkinliğini sınırlayan önemli bir faktör olduğu

anlaşılmıştır. Çalışmamızın sonuçları, plazmit aracılı kinolon direnç genlerinin *E. coli* enfeksiyonlarının tedavisi ve kontrolünde hastanemizde önemli sorunlar yaratabileceğini ve kinolon türevi antibiyotiklerin ampirik kullanımının sakıncalı olduğunu ortaya koymaktadır. Gerek mevcut veriler gerekse çalışmamızda elde ettiklerimiz, MİK değerlerine yansımaları yüksek olmadığı için rutinde kullanılan testlerle saptanamayan plazmit aracılı kinolon direnç determinantlarının gözden kaçırılmaması için moleküler analizlerle tanımlanması ve direnç gelişimine neden olan mekanizmaların karakterize edilmesinin gerekliliğini ve önemini vurgulamaktadır. Ayrıca, ülkemizde ve dünya genelinde yapılacak geniş çaplı sürveyans çalışmaları ile plazmit aracılı kinolon direnç prevalansının doğru olarak saptanmasının sorunun boyutunun belirlenmesine yardımcı olacağı ve gerek hastanelerde gerekse toplumda direncin hızlı yayılımını önlemek için alınması gereken önlemlere de rehberlik edeceği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Abdel-Rhman, S.H., Elbargisy, R.M., Rizk, D.E., 2021, Characterization of Integrins and Quinolone Resistance in Clinical *Escherichia coli* Isolates in Mansoura City, Egypt. *Int J Microbiol*, 6468942.
- Akalın, H., 2011, Antimikrobiyal direnç ve önleme politikaları. *Ankem Derg*, 25, 190-195.
- Aktepe, O.C., Aşık, G., Çetinkol, Y., Biçmen, M., Gülay, Z., 2012, *Escherichia coli* Suşlarında Plazmide Bağlı Kinolon Direncinin Araştırılması. *Mikrobiyol Bul*, 46(1), 9-16.
- Albornoz, E., Tijet, N., De Belder, D., et al., 2017, qnrE1, a member of a new family of plasmid-located quinolone resistance genes, originated from the chromosome of Enterobacter species, *Antimicrob Agents Chemother*, 61(5), e02555-16.
- Aldred, K.J., Kerns, R.J., Osheroff, N., 2014, Mechanism of quinolone action and resistance, *Biochemistry*, 53(10), 1565-74.
- Alpay-Karaoglu, S., Ozgumus, O.B., Sevim, E., Kolayli, F., Sevim, A., Yesilgil, P., 2007, Investigation of antibiotic resistance profile and TEM-type  $\beta$ -lactamase gene carriage of ampicillin-resistant *Escherichia coli* strains isolated from drinking water. *Ann Microbiol*, 57(2), 281-288.
- Andriole, V.T., 2005, The quinolones: past, present and future, *Clin Infect Dis*, 41, Suppl 2: S113-9.
- Arslan, H., Azap, O.K., Ergönül, O., Timurkaynak, F., 2005, Urinary Tract Infection Study Group. Risk factors for ciprofloxacin resistance among *Escherichia coli* strains isolated from community acquired urinary tract infections in Turkey. *J Antimicrob Chemother*, 56, 914-18.
- Aslam, B., Wang, W., Arshad, M.I., Khurshid, M., Muzammil, S., Rasool, M. H., Baloch, Z., 2018, Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis, *Infection and drug resistance*, 11, 1645.
- Ausubel, F.M., Brient, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A., Struhl, K., 1995, *Short Protocols in Molecular Biology*, 2nd ed., John Willey & Sons, New York, N.Y., USA.

- Ayobola, E.D., Oscar, W.O., Ejovwokoghene, E.F., 2021, Plasmid-mediated quinolone resistance genes transfer among enteric bacteria isolated from human and animal sources. *AIMS Microbiol*, 7(2):200-215.
- Azargun, R., Gholizadeh, P., Sadeghi, V., Hosainzadegan, H., Tarhriz, V., Memar. M.Y., Pormohammad, A., Eyvazi, S., 2020, Molecular mechanisms associated with quinolone resistance in *Enterobacteriaceae*: review and update, *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 114(10), 770-781.
- Azargun, R., Sadeghi, M.R., Barhaghi, M.H.S., et al., 2018, The prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance and ESBL-production in *Enterobacteriaceae* isolated from urinary tract infections. *Infect Drug Resist*. 11, 1007.
- Azeez, D. A., Fındık, D., Türk Dağı, H., Arslan, U., 2018, Plasmid-mediated fluoroquinolone resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* in Konya, Turkey. *Cukurova Med J*, 43, 295-300.
- Bado, I., Gutiérrez, C., García-Fulgueiras, V., et al. 2016, CTX-M-15 in combination with *aac (6')-Ib-cr* is the most prevalent mechanism of resistance both in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, including *K. pneumoniae* ST258, in an ICU in Uruguay. *J Glob Antimicrob Resist*, 6, 5-9.
- Baran, C., Küçükcan, A., 2022, Antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from urine cultures in Southern Turkey, *Curr Urol*, 16(3), 180–184.
- Baron, E.J., Peterson, L.R., Finegold, S.M., 1994, *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*, First ed. Mosby Publications, Baltimore, 362-387.
- Bean, D.C., Krahe, D., Wareham, D.W., 2008, Antimicrobial resistance in community and nosocomial *Escherichia coli* urinary tract isolates, London 2005-2006. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 7, 13.
- Bennett, P.M., 2008, Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *Br J Pharmacol*, 153 Suppl 1(Suppl 1), S347-57.
- Bilgehan, H., 2000, *Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları*. 10. Baskı. Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, Ankara, 285-302.
- Bönemann, G., Stiens, M., Puhler, A., and Schluter, A., 2006, Mobilizable *incQ*-Related plasmid carrying a new quinolone resistance gene, *qnrS2*, isolated from the bacterial community of a wastewater treatment plant, *Antimicrob Agents Chemother*, 50, 3075-3080.

- Briales, A., Rodríguez-Martínez, J.M., Velasco, C., et al. 2012, Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants *qnr* and *aac(6')-Ib-cr* in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in Spain. *Int J Antimicrob Agents*, 39(5), 431-4.
- Brooks, G.F., Carroll, K.C., Butel, J.S., Morse, S.A, 2010, *Jawetz, Melnick ve Adelberg's Tıbbi Mikrobiyoloji*, Yenen, O.Ş., (ed.), 24. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. İstanbul, 253-4.
- Buruk, C.K., Öztel Ocak, H., Bayramoğlu, G., Aydın, F., 2016, Kan Akımı Enfeksiyonu Etkeni Olan Kinolona Dirençli *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. İzolatlarında Plazmid Aracılı Kinolon Direnç Genlerinin Araştırılması, *Mikrobiyol Bul*, 50(2), 186-19.
- Bush, N.G., Diez-Santos, I., Abbott, L.R., Maxwell, A., 2020, Quinolones: Mechanism, Lethality and Their Contributions to Antibiotic Resistance, *Molecules*, 25(23), 5662.
- Cambau, E., Lascos, C., Sougakoff, W., Bebear, C., Bonnet, R., Cavallo, J.D., Gutmann, L., Ploy, M.C., Jarlier, V., Soussy, C.J., Robert, J., 2006, Occurrence of *qnrA*-positive clinical isolates in French teaching hospitals during 2002–2005, *Clin Microbiol Infect*, 12, 1013-1020.
- Carattoli, A., 2013, Plasmids and the spread of resistance. *Int J Med Microbiol*, 303(6-7):298-304.
- Cattoir, V., Poirel, L., Nordmann, P., 2008, Plasmid-mediated quinolone resistance pump QepA2 in an *Escherichia coli* isolate from France. *Antimicrob Agents Chemother*, 52(10), 3801-4,
- Cattoir, V., Poirel, L., Rotimi, V., Soussy, C. J., & Nordmann, P., 2007, Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated quinolone resistance *qnr* genes in ESBL-producing enterobacterial isolates. *J Antimicrob chemother*, 60(2), 394-397.
- CDC., 2019, Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC.
- Cengiz, M., 2010, Bakterilerde Kinolon Direncinin Genetiği, *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 29, 55-60.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2012, *E. coli (Escherichia coli)* [online]. Available from: <http://www.cdc.gov/ecoli/general/>. [Erişim tarihi: Eylül 2022].

- Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2013, *Escherichia coli* [online]. Available from: <http://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2014/chapter3-infectious-diseases-related-to-travel/escherichia-coli>. [Erişim tarihi: Eylül 2022].
- Chakrabarty, R.P., Sultana, M., Shehreen, S., Akter, S., Hossain, M.A., 2016, Contribution of target alteration, protection and efflux pump in achieving high ciprofloxacin resistance in *Enterobacteriaceae*, *AMB Express*, 6, 126.
- Chen, H.D., Frankel, G., 2005, Enteropathogenic *Escherichia coli*: unravelling pathogenesis, *FEMS Microbiol Rev*, 29(1), 83-98.
- Chen, X., Zhang, W., Pan, W., et al., 2012, Prevalence of *qnr*, *aac (6')-Ib-cr*, *qepA*, and *oqxAB* in *Escherichia coli* isolates from humans, animals, and the environment. *Antimicrob Agents Chemother*, 56(6), 3423–7.
- Choi, K.H., Park, S., Lee, J.H., Kwon S., 2012, Factors affecting the prescribing patterns of antibiotics and injections, *Journal of Korean Medical Science*, 27 (2), 120–127.
- CLSI, 2013, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement, Document M100-S23 (ISBN 1-56238-865-7[Print]). Clinical and Laboratory Standards Institute, USA.
- CLSI, 2016, Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. M100S. 26:1-129.
- Coskun-Ari, F.F. and Bosgelmez-Tinaz, G., 2008, *grlA* and *gyrA* mutations and antimicrobial susceptibility in clinical isolates of ciprofloxacin-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Eur J Med Res*, 13(8), 366-370.
- Coyne, S., Courvalin, P., Pe´richon, B., 2011, Efflux-Mediated Antibiotic Resistance in *Acinetobacter* spp, *Antimicrob Agents Chemother*, 55(3): 947-953.
- Cruz, G.R., Radice, M., Sennati, S., et al., 2013, Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants among oxyiminocephalosporin-resistant *Enterobacteriaceae* in Argentina. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 108: 924-927.
- Çoban, A.Y., Nohut, O.K., Tanrıverdi Çaycı, Y., Bayramoğlu, G., Pirinççiler, M., Çetinkaya, E., Cihan, Ç.Ç., Bozdoğan, B., Durupınar, B., 2012, *Enterobacteriaceae* Üyelerinde Plazmid Aracılı Kinolon Direnç Determinantlarının Araştırılması. *Mikrobiyol Bul*, 46(3), 366-74.
- de Kraker, M.E., Jarlier, V., Monen, J.C., Heuer, O.E., van de Sande, N., Grundmann, H., 2013, The changing epidemiology of bacteraemias in Europe: trends from the

- European Antimicrobial Resistance Surveillance System, *Clin Microbiol Infect*, 19, 860-8.
- Doma, A.O., Popescu, R., Mitulețu, M., Muntean, D., Dégı, J., Boldea, M.V., Radulov, I., Dumitrescu, E., Muselin, F., Puvača, N., Cristina, R.T., 2020, Comparative Evaluation of *qnrA*, *qnrB*, and *qnrS* Genes in *Enterobacteriaceae* Ciprofloxacin-Resistant Cases, in Swine Units and a Hospital from Western Romania. *Antibiotics (Basel)*, 9(10), 698.
- Doumith, M., Ellington, M.J., Livermore, D.M., et al. 2009, Molecular mechanisms disrupting porin expression in ertapenem-resistant *Klebsiella* and *Enterobacter* spp. clinical isolates from the UK, *J Antimicrob Chemother*, 63(4), 659–67.
- Duran, H., Çeken, N., Atik, B., 2022, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* Türlerinde Antibiyotik Direnci ne Durumda? Yoğun Bakım Ünitesinden Beş Yıllık Analiz. *Fırat Tıp Dergisi*, 27(2), 116-120.
- Eisenstein, I.B., Zaleznik, F.D, 2000, *Enterobacteriaceae*, In: Principles and Practice of Infectious Diseases, Mandell, G.L., Benett, J.E., Dolin, R., (ed.) Churchill Livingstone, fifth edition, volume 2, p. 2294-310.
- Erdem, B., 1999, *Enterobacteriaceae*, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, İçinde: Ustaçelebi, Ş. (ed), Güneş Kitabevi Ltd. Şti., Ankara, 471- 485.
- Fındık, D., 2008, *Escherichia Türleri*, İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, içinde: Topçu, A.W., Söyletir, G., Doğanay, M. (ed), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, s. 2136-2147.
- Fonseca, É.L., dos Santos Freitas, F., Vieira, V.V., Vicente, A.C.P., 2008, New *qnr* gene cassettes associated with superintegron repeats in *Vibrio cholerae* O1, *Emerg Infect Dis*, 14, 1129-1131.
- García, A., Fox, J.G. 2021, A One Health Perspective for Defining and Deciphering *Escherichia coli* Pathogenic Potential in Multiple Hosts. *Comp Med*, 71(1), 3-45.
- Gulay, Z., Bıçmen, M., Gur, D., 2010, Prevalance 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*, 16(2), 193.
- Gülay, Z., 2002, Kinolon Direnci, *Flora İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*, 7(4), 225-232.
- Günel, E., Erdem, H., 2014, Kinolonlar, *İç Hastalıkları Dergisi*, 21, 69-85.

- Hansen, L.H., Jensen, L.B., Sørensen, H.I., Sørensen, S.J., 2007, Substrate specificity of the OqxAB multidrug resistance pump in *Escherichia coli* and selected enteric bacteria. *J Antimicrob Chemother*, 60(1), 145-7.
- Hansen, L.H., Johannesen, E., Burmølle, M., Sørensen, A.H., Sørensen, S.J., 2004, Plasmid encoded multidrug efflux pump conferring resistance to olaquinox in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*, 48(9), 3332-7.
- Harbottle, H., Thakur, S., Zhao, S., White, D.G., 2006, Genetics of antimicrobial resistance, *Animal Biotechnology*, 17, 111-124.
- Harvey, R.A., Champe, P.A., 2006, *Lippincott Illustrated Reviews*, Mikrobiyoloji. Çeviri Editörü: Anđ, Ö., Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti., İstanbul, 175-179.
- Hasdemir, U., 2007, Çoklu ilaç direncinde bakteri hücre duvarı organizasyonu ve aktif pompa sistemlerinin rolü [The role of cell wall organization and active efflux pump systems in multidrug resistance of bacteria], *Mikrobiyol Bul*, 41(2), 309-27.
- Hassan, W.M., Hashim, A., Domany, R., 2012, 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*, 30(4), 442-7.
- Hata, M., Suzuki, M., Matsumoto, M., Takahashi, M., Sato, K., Ibe, S., Sakae, K., 2005, Cloning of a novel gene for quinolone resistance from a transferable plasmid in *Shigella flexneri* 2b. *Antimicrob Agents Chemother*, 49(2), 801-3.
- Herrera-Leon, S., Gonzalez-Sanz, R., Herrera-Leon, L., Echeita, M.A., 2011, Characterization of multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* carrying plasmid-mediated quinolone resistance mechanisms in Spain, *J Antimicrob Chemother*, 66(2), 287-90.
- Hooper, D.C. and Wolfson, J.S., 1991, Fluoroquinolone antimicrobial agents, *New England Journal of Medicine*, 324(6), 384-394.
- Hooper, D.C., 2001a, Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance, *Emerg Infect Dis.*, 7(2), 337-341.
- Hooper, D.C., 2001b, Mechanisms of action and resistance of older and newer quinolones, *Clin Infect Dis*, 31(2), 24-28.
- Hooper, D.C., Strahilevitz, J., 2010, *Quinolones*, In Principles and Practice of Infectious Diseases, Mandell, G.L., Bennett, J.E., Dolin, R., (ed). 7th ed., Philadelphia, Elsevier Chirchill Livingstone, pp. 487-510.

- Hopkins, K.L., Davies, R.H., Threlfall, E.J., 2005, Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: recent developments. *Int J Antimicrob Agents*, 25, 358-373.
- Hoşgör-Limoncu, M., Eraç, B., Yurtman, A.N., Aydemir, S., 2012, Plasmid-mediated quinolone resistance mechanisms in ESBL positive *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains at a tertiary-care hospital in Turkey. *J Chemother*, 24(3): 144-9.
- Huang, L.F., Lo, Y.C., Su, L.H., Chang, C.L., 2014, Antimicrobial susceptibility patterns among *Escherichia coli* urinary isolates from community-onset health care-associated urinary tract infection, *Journal of the Formosan Medical Association*, 1-4.
- Huh, K., Kim, J., Cho, S.Y., Ha, Y.E., Joo, E-J., Kang, C-I., Chung, D.R., Lee, N.Y., Song, J-H., Peck, K.R., 2013, Continuous increase of the antimicrobial resistance among Gram-negative pathogens causing bacteremia: A nationwide surveillance study by the Korean Network for Study On Infectious Diseases (KONSID), *Diagn Microbiol Infect Dis*, 76(4), 477-482.
- Iabadene, H., Messai, Y., Ammari, H., et al., 2008, Dissemination of ESBL and *Qnr* determinants in *Enterobacter cloacae* in Algeria. *J Antimicrob Chemother*, 62(1), 133-6.
- Jacoby, G.A., 2005, Mechanisms of resistance to quinolones, *Clin Infect Dis*, 41(2), 120-126.
- Jacoby, G.A., 2017, *Plasmid-mediated quinolone resistance*. In: *Antimicrobial Drug Resistance*, Springer, Berlin, 265-268.
- Jena, J., Sahoo, R.K., Debata, N.K., Subudhi, E., 2017, Prevalence of TEM, SHV, and CTX-M genes of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections in adults, *3 Biotech*, 7(4), 1-7.
- Kang, H.Y., Tamang, M.D., Seol, S.Y., et al., 2009, Dissemination of plasmid mediated *qnr*, *aac (6')-Ib-cr*, and *qepA* genes among 16S rRNA methylase producing *Enterobacteriaceae* in Korea. *J Bacteriol Virol*, 39(3), 173–82.
- Kaper, J.B., Nataro, J.P., Mobley, H.L., 2004, Pathogenic *Escherichia coli*, *Nat Rev Microbiol*, 2(2), 123-40.
- Karah, N., Poirel, L., Bengtsson, S., Sundqvist, M., Kahlmeter, G., Nordmann, P., Sundsfjord, A., Samuelsen, Ø., 2010, Norwegian Study Group on PMQR. Plasmid-mediated quinolone resistance determinants *qnr* and *aac(6')-Ib-cr* in *Escherichia coli*

- and *Klebsiella* spp. from Norway and Sweden. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 66(4), 425-31.
- Kim, E.S., Jeong J.Y., Choi, S.H., Lee, S.O., Kim, S.H., Kim, M.N., Woo, J.H., Kim, Y.S., 2009, Plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump gene, *qepA*, in *Escherichia coli* clinical isolates in Korea. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 65(3), 335-8
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Winn, W.C., Procop, G.W., Woods, G.L., 2006, *Enterobacteriaceae*, In Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Lippincott, Philadelphia-New York, 6th ed., pp. 211-302.
- Kourtis, A.P., Sheriff, E.A., Weiner-Lastinger, L.M., Elmore, K., Preston, L.E., Dudeck, M., McDonald, L.C., 2021, Antibiotic Multidrug Resistance of *Escherichia coli* Causing Device- and Procedure-related Infections in the United States Reported to the National Healthcare Safety Network, 2013–2017, *Clin Infect Dis*, 73(11), e4552–e4559.
- Kumar, A., Schweizer, H.P., 2005, Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake, *Adv Drug Deliver Rev*, 57,1486-1513.
- Laupland, K.B., 2013, Incidence of bloodstream infection: a review of population-based studies. *Clin Microbiol Infect*, 19(6), 492-500.
- Leblebicioğlu, H., 2002, Yeni kinolonlarda mikrobiyolojik ve klinik etkinlik, *Ankem Derg*, 16(3), 226-231.
- Lever, A., Mackenzie, I., 2007, Sepsis: definition, epidemiology, and diagnosis, *BMJ*, 335(7625), 879-83.
- Levine, M.M., 1987, *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent, *J Infect Dis*. 155, 377-389.
- Levinson, W., 2018a, *Antimikrobiyal İlaçlar: Etki Mekanizmaları* (çev. Söyletir, G., Altınkanat Gelmez, G.). Review of Medical Microbiology and Immunology/Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji, In/İçinde: Şener, B., Esen, B. (ed.), Ondördüncü baskı, Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, 69-86.
- Levinson, W., 2018b, *Antimikrobik İlaçlar* (çev. Karatuna, O.). Review of Medical Microbiology and Immunology/Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji, In/İçinde: Şener, B., Esen, B. (ed.), Ondördüncü baskı, Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, 87-95.
- Li, J., Zhang, H., Ning, J., et al. 2019, The nature and epidemiology of OqxAB, a multidrug efflux pump, *Antimicrob Resist Infect Contr*, 8(1), 44.

- Li, X.Z., 2005, Quinolone resistance in bacteria: emphasis on plasmid-mediated mechanisms, *Int J Antimicrob Agents*, 25, 453-63.
- Ling, J.M.L., Chan, E.W., Cheng, A.F., 2006, Surveillance of antibiotic resistance in the community: an approach to reducing bacterial resistance to antimicrobial agents. *Hong Kong Med J*, 12(Suppl 3), p. 15-7.
- Liu, J-H., Deng, Y-T., Zeng, Z-L., et al., 2008, 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*, 52(8), 2992-3.
- Machado, E., Coque, T.M., Cantón, R., et al., 2006, Dissemination in Portugal of CTX-M-15-, OXA-1-, and TEM-1-producing *Enterobacteriaceae* strains containing the *aac* (6')-Ib-cr gene, which encodes an aminoglycoside-and fluoroquinolone-modifying enzyme. *Antimicrob Agents Chemother*, 50(9), 3220-1.
- Majlesi, A., Kakhki, R.K., Mozaffari Nejad, A.S., Mashouf, R.Y., Roointan, A., Abazari, M., Alikhani, M.Y., 2018, Detection of plasmid-mediated quinolone resistance in clinical isolates of *Enterobacteriaceae* strains in Hamadan, West of Iran. *Saudi J Biol Sci*, 25(3), 426-430.
- Malickbasha, M., Arunachalam, R., Senthilkumar, B., et al. 2010, Effect of *ompR* gene mutation in expression of *ompC* and *ompF* of *Salmonella typhi*, *Interdisciplin Sci*, 2(2), 157-62.
- Martínez-Martínez, L., Eliecer Cano, M., Rodríguez-Martínez, J.M., et al. 2008, Plasmid-mediated quinolone resistance. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 6(5), 685-711.
- Martínez-Martínez, L., Pascual, A., García, I., Tran, J., Jacoby, G.A., 2003, Interaction of plasmid and host quinolone resistance, *J Antimicrob Chemother*, 51(4) 1037-9.
- Martínez-Martínez, L., Pascual, A., Jacoby, G.A., 1998, Quinolone resistance from a transferable plasmid, *Lancet*, 351(9105), 797-9.
- Mathai, D., Jones, R.N., Pfaller, M.A., 2001, SENTRY Participant Group North America: Epidemiology and frequency of resistance among pathogens causing urinary tract infections in 1,510 hospitalized patients: a report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (North America), *Diagn Microbiol Infect Dis*, 40(3), 129-36,
- Mcmurray, L.M., Petrucci, R.E., Levy, S.B., 1980, Active efflux of tetracycline encoded by four genetically different tetracycline resistance determinants in *Escherichia coli*, *Proc Nat Acad Sci USA*, 77, 3974-3977.

- McNally, A., Alhashash, F., Collins, M., Alqasim, A., Paszckiewicz, K., Weston, V., Diggle, M., 2013, Genomic analysis of extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* urosepsis, *Clin Microbiol Infect*, 19(8), E328-34.
- Mehli, M., Gayyurhan, E.D., Zer, Y., Akgün, S., Özgür Akın, F.E., Balcı, İ., 2007, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları, *İnfek Derg*, 21(3), 141-5.
- Mitra, S., Mukherjee, S., Naha, S., Chattopadhyay, P., Dutta, S., Basu, S., 2019, Evaluation of co-transfer of plasmid-mediated fluoroquinolone resistance genes and *bla*<sub>NDM</sub> gene in *Enterobacteriaceae* causing neonatal septicaemia. *Antimicrob Resist Infect Control*. 27;8:46.
- Moellering, R.C., 2005, The fluoroquinolones: the last Samurai, *Clin Infect Dis*, 41(2), 111-2.
- Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Landry, M.L., 2007, *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. ASM Press, Washington, DC; 670-715.
- Murray, P.R., Rosenthal, K.S., Pfaller, M.A., 2010, *Enterobacteriaceae* (çev. Zarakolu Köşker I.P.). Medical Microbiology/Tıbbi Mikrobiyoloji, In/İçinde: Başustaoglu, A.C. (ed.), Altıncı baskı, Atlas Kitapçılık, Ankara, 301-315.
- Nataro, J.P. and Kaper, J.B., 1998, Diarrhoeagenic *Escherichia coli*, *Clin Microbiol Rev*. 11, 142-201.
- Nazik, H., Bektöre, B., Öngen, B., Ilktaş, M., Özyurt, M., Kuvat. N., Baylan, O., Keküllüoglu, H., Haznedaroglu, T., Kelesoglu, F.M., 2011, 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  $\beta$ -lactamases. *Trop J Pharm Res*, 10(3): 325-33.
- Nazik, H., Ilktaş, M., Öngen, B., 2009, 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*, 21(2), 219-21.
- Nazik, H., Öngen, B., 2010, Türkiye'de plazmit aracılı kinolon direnci, *ANKEM Derg*, 24(1), 46-54.
- Nazik, H., Poirel, L., Nordmann, P., 2005, Further identification of plasmid-mediated quinolone resistance determinant in *Enterobacteriaceae* in Turkey. *Antimicrob. Agents Chemother*, 49, 2146-2147.

- Nordmann, P., Poirel, L., 2005, Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in *Enterobacteriaceae*, *J Antimicrob Chemother*, 56, 463-469.
- Oktem, I.M., Gulay, Z., Bicmen, M., Gur, D., 2008, HITIT Project Study Group. *qnrA* prevalence in extended-spectrum beta-lactamase-positive *Enterobacteriaceae* isolates from Turkey. *Jpn J Infect Dis*, 61(1), 13-17.
- Oliphant, C.M., Green, G.M., 2002, Quinolones: a comprehensive review, *Am Fam Physician*. 65(3), 455-64.
- Öngen, B., 2008, *Escherichia enfeksiyonları*. Tıbbi Mikrobiyoloji 3, İçinde: Gürler, B. (ed), İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları. 2. baskı. Nobel Tıp Kitabevleri. Ankara, s. 197-201.
- Öznel Ocak, H., 2014, Kan kültürlerinden izole edilmiş kinolon dirençli *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. izolatlarında plazmid aracılı kinolon direncinin araştırılması, *Uzmanlık Tezi*, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Öztürk, R., 2002, Antimikrobik İlaçlara Karşı Direnç Gelişme Mekanizmaları ve Günümüzde Direnç Durumu. *Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi*, 31(11), 83-100.
- Öztürk, R., 2008, Akılcı antibiyotik kullanımı ve ülkemizde antimikrobik maddelere direnç sorunu, *Toplumdan edinilmiş enfeksiyonlara pratik yaklaşımlar Sempozyum Dizisi*, 61, 1-6.
- Pakzad, I., Ghafourian, S., Taherikalani, M., et al., 2011, Qnr prevalence in extended spectrum beta-lactamases (ESBLs) and none-ESBLs producing *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections in central of Iran, *Iran J Basic Med Sci*, 14(5), 458– 64.
- Park, C.H., Robicsek, A., Jacoby, G.A., Sahm, D., Hooper, D.C., 2006, Prevalence in the United States of *aac(6')-Ib-cr* encoding a ciprofloxacin-modifying enzyme. *Antimicrob Agents Chemother*, 50, 3953-3955.
- Pazarlı, O., Cömert, F., Külah, C., Aktaş, E., Köktürk, F., 2017, Kinolon Dirençli *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. İzolatlarında Direnç Sağlayan Gen Mutasyonlarının ve Direnç Genlerinin Araştırılması, *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 47(4), 176-184.
- Périchon, B., Courvalin, P., Galimand, M., 2007, Transferable resistance to aminoglycosides by methylation of G1405 in 16S rRNA and to hydrophilic fluoroquinolones by QepA-mediated efflux in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*, 51(7), 2464-9.

- Peterson, L.R., 2001, Quinolone molecular structure-activity relationships: what we have learned about improving antimicrobial activity, *Clin Infect Dis*, 33(3), 180-6.
- Pham, T.D.M., Ziora Z.M., Blaskovich, M.A.T., 2019, Quinolone antibiotics, *Med Chem Commun*, 10, 1719-1739.
- Piddock, L.J., 2006, Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria. *Clin Microbiol Rev*, 19(2), 382–402.
- Pitout, J.D.D., Weil, Y., Church, D.L., et al., 2008, Surveillance for plasmid-mediated quinolone resistance determinants in *Enterobacteriaceae* within the Calgary Health Region, Canada: the emergence of *aac(6')-Ib-cr*. *J Antimicrob Chemother*, 61, 999-1002.
- Poirel, L., Cattoir, V., Nordmann, P., 2008a, Is plasmid-mediated quinolone resistance a clinically significant problem? *Clin Microbiol Infect*, 14, 295-7.
- Poirel, L., Gür, D., Minarini, L., Arslan U., Nordmann, P., 2008b, 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*, 19-22 April, Barcelona, Spain, P1527.
- Poirel, L., Rodriguez-Martinez, J.M., Mammeri, H., Liard, A., Nordmann, P., 2005, Origin of plasmid-mediated quinolone resistance determinant *qnrA*. *Antimicrob. Agents Chemother*, 49, 3523–3525.
- Pradipta, I.S., Sodik, D.C., Lestari, K., Parwati, I., Halimah, E., Diantini, A., Abdulah, R., 2013, Antibiotic Resistance in Sepsis Patients: Evaluation and recommendation of antibiotic use, *N Am J Med Sci*, 5(6), 344-52.
- Redgrave, L.S., Sutton, S.B., Webber, M.A. and Piddock, L.J., 2014, Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success, *Trends Microbiol*, 22(8), 438-445.
- Reygaert, W.C., 2018, An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria, *AIMS microbiology*, 4(3), 482-490.
- Riley, L.W., Remis, R.S., Helgerson, S.D., McGee, H.B., Wells, J.G., Davis, B.R., Hebert, R.J., Olcott, E.S., Johnson, L.M., Hargrett, N.T., Blake, P.A., Cohen, M.L., 1983, Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype, *N Eng J Med*, 308(12), 681-5.

- Roberts, R.R., Scott, R.D. 2nd, Hota, B., Kampe, L.M., Abbasi, F., Schabowski, S., Ahmad, I., Ciavarella, G.G., Cordell, R., Solomon, S.L., Hagtvedt, R., Weinstein, R.A., 2010, Costs attributable to healthcare-acquired infection in hospitalized adults and a comparison of economic methods. *Med Care*, 48(11), 1026-35.
- Robicsek, A., Jacoby, G.A., Hooper, D.C., 2006, The worldwide emergence of plasmid mediated quinolone resistance. *The Lancet Infectious diseases*, 6, 629–640.
- Rodríguez-Martínez, J.M., Cano, M.E., Velasco, C., Martínez-Martínez, L., Pascual, A., 2011, Plasmid-mediated quinolone resistance: an update, *J Infect Chemother*, 17(2), 149-82.
- Rodríguez-Martínez, J.M., Velasco, C., Briales, A., García, I., Conejo, M.C., Pascual, A., 2008, Qnr-like pentapeptide repeat proteins in gram-positive bacteria. *J Antimicrob Chemother*, 61, 1240–1243.
- Rodríguez-Martínez, J.M., Velasco, C., García, I., Cano, M.E., Martínez-Martínez, L., Pascual, A., 2007. Characterisation of integrons containing the plasmid-mediated quinolone resistance gene *qnrA1* in *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Antimicrob Agents*, 29,705-709.
- Ruiz, J., 2018, In silico analysis of transferable *QepA* variants and related chromosomal efflux pumps. *Rev Esp Quimioter*, 31(6), 537.
- Rusu, A., Lungu, I.A., Moldovan, O.L., Tanase, C., Hancu, G., 2021, Structural Characterization of the Millennial Antibacterial (Fluoro)Quinolones-Shaping the Fifth Generation, *Pharmaceutics*, 13(8), 1289.
- Saran, B., Karahan, Z.C., 2010, Antimikrobiyal ajanlara genel bakış, *Türk Urol Sem*, 1: 216-20.
- Saygı, Ş., Battal, D., Özlen Şahin, N., 2012, Çevre ve İnsan Sağlığı Yönünden İlaç Atıklarının Önemi, *Marmara Pharmaceutical Journal*, 16, 82-90.
- Seija, V., Medina Presentado, J.C., Bado, I., Ezdra, R.P., Batista, N., Gutierrez, C., Guirado, M., Vidal, M., Nin, M., Vignoli, R., 2015, Sepsis caused by New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase (blaNDM-1) and *qnrD*-producing *Morganella morganii*, treated successfully with fosfomycin and meropenem: case report and literature review, *Int J Infect Dis*, 30, 20-26.
- Serefhanoglu, K., Turan, H., Timurkaynak, F.E., Arslan, H., 2009, Bloodstream infections caused by ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumoniae*: Risk factors for multidrug-resistance. *Braz J Infect Dis*. 13(6), 403–7.

- Sevim, S., Öztürk, Ş., Coşkun, A., Özgenç, O., Avcı, M., 2007, Bactec kan kültür sistemi ile izole edilen mikro-organizmaların değerlendirilmesi, *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*, 21(3), 135-40.
- Shanthachol, T., Nilgate, S., Suankratay, C., 2012, A comparative study to determine the recovery rate of microorganisms of bloodstream infections: two versus three blood culture specimens, *J Med Assoc Thai*, 95(8), 1053-8.
- Siitonen, A., 1992, *Escherichia coli* in faecal flora of healthy adults: serotypes, P and type IC fimbriae, non-P mannose-resistant adhesions and haemolytic activity, *J Infect Dis*, 116, 1058-1065.
- Silva-Sanchez, J., Cruz-Trujillo, E., Barrios, H., et al., 2013, Characterization of plasmid mediated quinolone resistance (PMQR) genes in extended-spectrum  $\beta$ -*Enterobacteriaceae* pediatric clinical isolates in Mexico. Bacterial Resistance Consortium, *PLOS ONE* 8: e77968.
- Sørensen, A.H., Hansen, L.H., Johannesen, E., Sørensen, S.J., 2003, Conjugative plasmid conferring resistance to olaquinox. *Antimicrob Agents Chemother*, 47(2), 798-9.
- Stephenson, S., Brown, P.D., Holness, A. Wilks, M., 2010, The Emergence of *Qnr*-Mediated Quinolone Resistance among *Enterobacteriaceae* in Jamaica. *West Indian Med J*, 59, 241-244.
- Strahilevitz, J., Jacoby, G.A., Hooper, D.C., and Robicsek, A., 2009, Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat., *Clin Microbiol Reviews*, 22, 664-689.
- Szabó, O., Gulyás, D., Szabó, N., Kristóf, K., Kocsis, B., Szabó, D., 2018, Plasmid-mediated quinolone resistance determinants in *Enterobacteriaceae* from urine clinical samples, *Acta Microbiol Immunol Hung*, 65 (3), 255-265.
- Şahin, K., Altan, G., 2019, Kinolon Dirençli *Escherichia coli* İzolatlarında Diğer Antibiyotiklere Direnç Oranlarının Araştırılması. *J Biotechnol & Strategic Health Res* 3(3), 197-202.
- Tadesse, D.A., Zhao, S., Tong, E., Ayers, S., Singh, A., Bartholomew, M.J., McDermott, P.F., 2012, Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950-2002, *Emerg Infect Dis*, 18(5), 741-9.
- Tanigawara, Y., Nozawa, K., Tsuda, H., 2012, Optimal dose finding of garenoxacin based on population pharmacokinetics/pharmacodynamics and Monte Carlo simulation, *Eur J Clin Pharmacol*, 68(1), 39-53.

- Tanrıverdi Çaycı, Y., Bıyık, İ., Bırcı, A., 2022, Investigation of plasmid-mediated quinolone resistance genes in carbapenem resistant Enterobacterales. *J Exp Clin Med*, 39 (2), 429-433.
- Taşkın, P., 2015, Gram negatif bakterilerde plazmid aracılı kinolon direnci varlığının araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi*, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Tenover, F.C., 1996, The Challenges of Emerging Infectious Diseases, *JAMA*, 275(4), 300-310.
- Topçu, A.W., Koç, M.M., 2008, *Kinolonlar*, İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi içinde. Topçu, A.W., Söyletir, G., Doğanay, M., (ed.). Nobel Kitabevi, İstanbul, s. 341-353.
- Torres, A.G., Arenas-Hernández, M.M.P., Martinez-Laguna, Y., 2010, *Overview of Escherichia coli*. In: Pathogenic Escherichia coli in Latin America, Torres, A.G. (ed), Bentham Science Publishers Ltd.. USA, pp. 1-7.
- Töreci, K., 2002, *Escherichia Türleri*. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, In: Topçu, A.W., Söyletir, G., Doğanay, M. (ed.), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1564-1575.
- Tran, J.H., Jacoby, G.A., Hooper, D.C., 2005, Interaction of the plasmid-encoded quinolone resistance protein *QnrA* with *Escherichia coli* topoisomerase IV. *Antimicrob Agents Chemother*, 49(7), 3050-2.
- Ulusoy, S., 2003, *Kinolonlar*, Antibiyotikler içinde. Leblebicioğlu, H., Usluer, G., Ulusoy, S., (ed.). Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, Türkiye, s. 407-16.
- URL-1, [https://www.reactgroup.org/wp-content/uploads/2016/09/Resistance\\_mechanisms\\_Erik-Gullberg.png](https://www.reactgroup.org/wp-content/uploads/2016/09/Resistance_mechanisms_Erik-Gullberg.png) [Erişim tarihi: Eylül 2022].
- Van Bambeke, F., Michot, J., Van Eldere, J., Tulkens, P.M., 2005, Quinolones in 2005: an update, *CMI*, 11, 256-280
- Veldman, K., Cavaco, L., Mevius, D., et al., 2011, International collaborative study on the occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* isolated from animals, humans, food and environment in 13 European countries. *J Antimicrob Chemother*, 6, 1278-1286.
- von Wintersdorff, C.J., Penders, J., van Niekerk, J.M., Mills, N.D., Majumder, S., van Alphen, L.B., Savelkoul, P.H., Wolffs, P.F., 2016, Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. *Front Microbiol*, 7, 7.
- Wayne, P., 2015, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-

Fifth Informational Supplement M100-S25, *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 240.

- Webber, M.A., Piddock, L.J.V., 2003, The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance, *J Antimicrob Chemother*, 51, 9-11.
- Yamane, K., Wachino, J., Suzuki, S., Kimura, K., Shibata, N., Kato, H., Shibayama, K., Konda, T., Arakawa, Y., 2007, New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, *QepA*, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother*, 51(9), 3354-60,
- Yanat, B., Rodríguez-Martínez, J-M., Touati, A., 2017, Plasmid-mediated quinolone resistance in *Enterobacteriaceae*: a systematic review with a focus on Mediterranean countries, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 36(3), 421-35.
- Yang, H., Chen, H., Yang, Q., Chen, M., Wang, H., 2008, High prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance genes *qnr* and *aac(6')-Ib-cr* in clinical isolates of *Enterobacteriaceae* from nine teaching hospitals in China. *Antimicrob Agents Chemother*, 52(12), 4268-73.
- Yang, H.Y, Nam Y.S, Lee H.J. 2014, Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance genes among ciprofloxacin-nonsusceptible *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from blood cultures in Korea. *Can J Infect Dis Med Microbiol*, 25, 163-169.
- Yang, J., Luo, Y., Li, J., Ma, Y., Hu, C., Jin, S., Ye, L., Cui, S., 2010, Characterization of clinical *Escherichia coli* isolates from China containing transferable quinolone resistance determinants. *J Antimicrob Chemother*, 478, 1-7.
- Yang, L., Yang, L., Lü, D-H., et al., 2015, Co-prevalance of PMQR and 16S rRNA methylase genes in clinical *Escherichia coli* isolates with high diversity of CTX-M from diseased farmed pigeons. *Vet Microbiol*, 178(3-4), 238-45.
- Yılmaz, N., Ağuş, N., Bayram, A., Şamlıoğlu, P., Şirin, M.C., Karaca Derici, Y., Yılmaz Hancı, S., 2016, Antimicrobial susceptibilities of *Escherichia coli* isolates as agents of community-acquired urinary tract infection (2008-2014). *Turk J Urol*, 42(1), 32-6.

## ÖZGEÇMİŞ

| Kişisel Bilgiler |                                                                               |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| Adı Soyadı       | AHMED MOHSIN SALEH AL-AZZAWI                                                  |
| Doğum Yeri       |                                                                               |
| Doğum Tarihi     |                                                                               |
| Uyruğu           | <input type="checkbox"/> T.C. <input checked="" type="checkbox"/> Diğer: Irak |



| Eğitim Bilgileri |                    |
|------------------|--------------------|
| Lisans           |                    |
| Üniversite       | Musul Üniversitesi |
| Fakülte          | Çevre Fakültesi    |
| Bölümü           | Çevre bilimi       |
| Mezuniyet Yılı   | 2017               |

| Yüksek Lisans    |                                 |
|------------------|---------------------------------|
| Üniversite       | Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi |
| Enstitü Adı      | Fen Bilimleri Enstitüsü         |
| Anabilim Dalı    | Moleküler Biyoloji ve Genetik   |
| Programı         | Moleküler Biyoloji ve Genetik   |
| Mezuniyet Tarihi | 2022                            |

| Doktora          |  |
|------------------|--|
| Üniversite       |  |
| Enstitü Adı      |  |
| Anabilim Dalı    |  |
| Programı         |  |
| Mezuniyet Tarihi |  |

| Makale ve Bildiriler                                                                                                                                                                                                                                                                             |  |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| 1. Al-Azzawi, A.M.S., Ari, F.F., Sevim, E., Milletli Sezgin, F. Molecular detection of plasmid-mediated quinolone resistance genes in clinical <i>Escherichia coli</i> isolates. AHI EVRAN International Conference on Scientific Research, 30 November - 2 December 2021. (Online-Sözlü Sunum). |  |