

Escherichia coli Suşlarında Plazmide Bağlı Kinolon Direncinin Araştırılması

Investigation of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance in *Escherichia coli* Strains

Orhan Cem AKTEPE¹, Gülşah AŞIK¹, Yeliz ÇETİNKOL², Meral BİÇMEN³, Zeynep GÜLAY³

¹ Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar.

¹ Afyon Kocatepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Afyonkarahisar, Turkey.

² Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ordu.

² Ordu University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ordu, Turkey.

³ Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

³ Dokuz Eylul University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Izmir, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 30.05.2011 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 03.08.2011

ÖZET

Kinolonlar son yıllarda, özellikle *Escherichia coli* gibi gram-negatif basillerin oluşturduğu enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerdir. Ancak son zamanlarda kinolon direnci bu suşlarda hızlı bir artış göstermektedir. Bakterilerde görülen kinolon direnci, genellikle topoizomeras enzimlerini kodlayan kromozomal genlerde meydana gelen mutasyonlar sonucunda ortaya çıkmakta, buna eşlik eden geri atım pompaları ve porinlerin kaybı da kinolon direnci gelişmesinde diğer mekanizmalar olarak katkıda bulunmaktadır. Bununla birlikte, özellikle son yıllarda yapılan çalışmalar, kinolon direncinin yayılması ve görülen hızlı artışının, plazmide bağlı direnç genlerinin aktarımına bağlı olabileceğini göstermiştir. Bugüne kadar plazmid aracılı kinolon direnciyle ilgili yapılan çalışmalarda *qnr*, *aac(6')-Ib-cr* ve *qepA* olmak üzere üç gen tanımlanmıştır. Bu çalışmada, klinik *E.coli* izolatlarında plazmid aracılı kinolon direnç genlerinin varlığının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya, Afyon Kocatepe Üniversitesi Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden (84 idrar, 16 kan, 10 yara yeri, 2 bronkoalveoler lavaj) izole edilen ve 78 (%69.6)'i genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) pozitif olan toplam 112 kinolona dirençli *E.coli* suşu dahil edilmiştir. Suşlarda, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* ve *qnrC* genlerinin yanı sıra *qepA* ile *aac(6')-Ib-cr* plazmid kökenli kinolon direnç genleri polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle araştırılmıştır. *aac(6')-Ib-cr* direnç geninin saptanması için, önce *aac(6')-Ib* determinantına özgül primerler kullanılarak PCR ile amplifikasyon yapılmış, daha sonra *aac(6')-Ib-cr* varyantını tanımlamak için *aac(6')-Ib* pozitif ampiklonlar BseGI restriksiyon enzimiyle kesilerek araştırılmıştır. İncelenen *E.coli* suşlarının hiçbirinde *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qnrC* ve *qepA* tipi genler saptanmazken, *aac(6')-Ib-cr* geni varlığı %59.8

İletişim (Correspondence): Doç. Dr. Orhan Cem Aktepe, Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ali Çetinkaya Kampüsü, 03200, Afyonkarahisar, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 272 246 3304, **E-posta (E-mail):** aktepef@hotmail.com

(67/112) oranında bulunmuş ve bu izolatların da %86.6 (58/67)'sının GSBL üreten suşlar olduğu görülmüştür. Bölgemizde, yaygın bir klinik kullanıma sahip olan kinolonlara karşı direnç oranlarının *E.coli* suşlarında oldukça yüksek olduğu ve bu durumun artış gösterdiği izlenmiştir. Sonuç olarak bu dirençten, temel olarak *aac(6')-1b-cr* plazmid direnç geninin varlığı sorumlu bulunmuştur. Elde edilen veriler, kinolon direncinin saptanmasında ilk olarak bakılmakta olan *qnr* tiplerinin yanı sıra, dirençten sorumlu tüm plazmid kökenli genlerin incelenmesinin de önemli olduğunu ve kaynak araştırılmasında bu durumun göz önüne alınması gerektiğini vurgulamaktadır.

Anahtar sözcükler: *Escherichia coli*; plazmid; kinolon; plazmid aracılı direnç; *qnr*; *qepA*; *aac(6')-1b-cr*.

ABSTRACT

Quinolones are widely used antimicrobial agents, particularly for the treatment of infections caused by gram-negative bacilli such as *E.coli*. As a consequence, quinolone resistance has been increasing among this species in recent years. Bacterial resistance to quinolones usually results from mutations in the chromosomal genes which encode topoisomerases and also the expression of efflux pumps and loss of porines contributed to development of quinolone resistance. However, recent studies have shown that the spread and increase of quinolone resistance may be due to the transfer of plasmid-mediated genes. To date, three groups of plasmid-mediated quinolone resistance genes, namely *qnr*, *aac(6')-1b-cr*, and *qepA*, have been described. The aim of this study was to investigate the presence of plasmid-mediated quinolone resistance genes in *E.coli* clinical isolates. A total of 112 quinolone-resistant *E.coli* strains isolated from different clinical specimens (84 urine, 16 blood, 10 wound, 2 bronchoalveolar lavage) of which 78 (69.6%) were extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) positive, in Afyon Kocatepe University Hospital, Microbiology Laboratory were included in the study. In the isolates, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qnrC*, *qepA*, and *aac(6')-1b-cr* plasmid genes were analysed by polymerase chain reaction (PCR). After *aac(6')-1b* determinant was amplified by PCR, all *aac(6')-1b* positive amplicons were analyzed by digestion with BseGI restriction enzyme to identify *aac(6')-1b-cr* variant. It was found that, none of the strains harboured *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qnrC* and *qepA* genes, however, plasmid-mediated quinolone resistance gene *aac(6')-1b-cr* was found positive in 59.8% (67/112) of the strains. It was notable that 86.6% (58/67) of those isolates were ESBL producers. The rates of quinolone resistance among *E.coli* isolates infections were high in our region and an increasing trend has been observed in recent years. Our data indicated that the presence of plasmid-mediated resistance genes such as *aac(6')-1b-cr*, might have contributed to the high quinolone resistance rates. In conclusion, not only *qnr* genes but all other plasmid-mediated quinolone resistance genes, should be tested for the detection of plasmid-mediated quinolone resistance and this fact should be taken into consideration when the reservoirs are being searched for.

Key words: : *Escherichia coli*; quinolone; plasmid-mediated resistance; *qnr*; *qepA*; *aac(6')-1b-cr*.

GİRİŞ

Kinolon grubu antibiyotiklere direnç, doğal/intrensek ya da sonradan kazanılmış olabilmekte, bakterilerde bazal seviyede sentezlenen dışa geri atım pompaları bulunabilmektedir¹. Kinolonlara karşı duyarlı bakterilerde kazanılmış direnç gelişimi çoğunlukla tek basamaklı spontan kromozomal mutasyonlarla oluşmaktadır. Kromozomal mutasyonlar genellikle iki şekilde kendini göstermektedir. Birincisi kinolonların hedef enzimleri olan DNA giraz ve topoizomera IV'ün alt birimlerinde değişiklik, ikincisi de membran geçirgenliğinde bozulma şeklindedir^{2,3}. Plazmid aracılı kinolon direnci varsayımı ise ilk kez 1987 yılında nalidiksik aside dirençli bir *Shigella dysenteriae* suşunda ortaya atılmış, ancak kanıtlanmamıştır⁴. İlk plazmid aracılı kinolon direncinin varlığı, bir hastanın idrar

örneğinden 1994 yılında izole edilen, siprofloksasine dirençli *Klebsiella pneumoniae* suşunda gösterilmiştir⁵. Bu direnç fenotipinden sorumlu plazmidin klonlanması sonucu tanımlanan gen bölgesi “*qnr*” olarak adlandırılmış; bu genin 218 aminoasitten oluşan tekarrarlayan pentapeptid ailesine ait bir proteini (QnrA) kodladığı belirlenmiş ve daha sonraki çalışmalarla plazmid aracılığıyla kinolon direncine neden olan benzer proteinler (QnrS, QnrB, QnrC ve QnrD) keşfedilmiştir⁶.

Plazmid aracılı kinolon direncine neden olan *qepA* (quinolon efflux pump) geni ise 2002 yılında Japonya’da idrar örneğinden izole edilen bir *Escherichia coli* suşunda gösterilmiştir⁷. QepA proteini, 14 transmembran MFS (major facilitator superfamily) ailesine ait bir geri atım pompa sistemidir. Shanghai’da 2006 yılında, klinik *E.coli* izolatlarında *qnrA* ekspresyonunun artışına bağlı olmayan, siprofloksasin direncinin dört katı artışından sorumlu bir plazmid daha ortaya çıkarılmıştır⁸. Bu fenotipten sorumlu olan *aac(6’)-Ib* geni kanamisin, tobramisin ve amikasin direncine neden olan bir aminoglikozid asetiltransferazı kodlar. *aac(6’)-Ib* allelinde, siprofloksasin direnç fenotipi için gereken iki kodon değişimi meydana gelir. Asetilasyon, siprofloksasinin piperazinil amin grubunu etkileyen *aac(6’)-Ib* varyantıyla gerçekleştirilir. Yapısında sekonder amin olarak piperazinil içermeyen kinolonlar bu enzimden etkilenmez. *aac(6’)-Ib-cr* geniyle kodlanan bu varyant; norfloksasin ve siprofloksasin gibi bazı kinolonların enzimatik inaktivasyonuna ve sonuçta duyarlılığın azalmasına neden olmaktadır⁸. Düşük düzey kinolon direncine neden olan plazmid aracılı bu mekanizmaların tedavi dozlarındaki kinolon varlığında yüksek düzey direncin ortaya çıkmasını kolaylaştırdığı bildirilmektedir⁹.

Daha çok kinolonlara dirençli *Enterobacteriaceae* üyelerinin incelendiği çalışmalarda, plazmid aracılı kinolon direnci genlerinin sıklığının %1-50 gibi geniş bir aralıkta değiştiği, bu genlerin kinolonlara duyarlı bakterilerde de bulunabildiği bildirilmektedir¹. Plazmid yoluyla kazanılmış direnç geliştirebilme yeteneğindeki *E.coli* suşlarında kinolonlara karşı artan direncin, bu antibiyotiklerin klinik kullanımını sınırlaması muhtemeldir. Bölge-mizde de özellikle *E.coli* suşlarında artan kinolon direncinin plazmide bağlı aktarım yoluyla olabileceği düşünülerek bu çalışma planlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

2007-2009 yılları arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi, Araştırma Uygulama Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı arşivinde bulunan *E.coli* suşları retrospektif olarak tarandı ve kinolonlara dirençli 112 suş çalışmaya dahil edildi. Üreme özellikleri ve koloni morfolojileriyle ayrılan izolatların tanımlanması, KIA üremeleri ve IMVIC reaksiyonlarıyla gerçekleştirildi. İndol pozitif, metil-kırmızısı pozitif, Voges-Proskauer negatif, sitrat negatif suşlar *E.coli* olarak değerlendirildi ve gerektiğinde otomatize tanımlama sistemleriyle doğrulandı. Çalışmaya alınan suşlar -80°C’den alınarak beyin-kalp buyyonunda canlandırıldı; EMB ve kanlı agar pasajlanarak saf kültürleri elde edildi. Suşların antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle “Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)” kriterlerine göre belirlendi¹⁰. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) varlığı CLSI önerileri¹⁰ doğrultusunda çift disk sinerji yöntemiyle saptandı ve gerektiğinde E-test ile doğrulandı. Kontrol olarak *E.coli* ATCC 25922 suşu kullanıldı.

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapıldı. Suşlardan nükleik asit izolasyonu kaynatma yöntemiyle gerçekleştirildi. Her gen bölgesi için uygun PCR reaksiyon programı ve uygun primerler (Tablo I) kullanılarak termal döngü ile (Techne TC-512, ABD) *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qnrC*, *qepA* ve *aac(6')1b* plazmid kökenli kinolon direnç genleri araştırıldı. *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* genleri için amplifikasyon 32 döngü ve ön denatürasyon 94°C'de üç dakika, denatürasyon 94°C'de 45 saniye, birleşme 53°C'de 45 saniye, uzama 72°C'de bir dakika, son uzatma 72°C'de beş dakika; *qnrC*, *qepA* ve *aac(6')1b* genleri için amplifikasyon 30 döngü ve ön denatürasyon 94°C'de üç dakika, denatürasyon 94°C'de 30 saniye, birleşme 53°C'de 45 saniye, uzama 72°C'de bir dakika, son uzatma 72°C'de beş dakika şeklinde uygulandı. Pozitif kontrol olarak; *qnrA* Prof. Dr. G. Jacoby; *qnrC* Prof. Dr. M. Wang ve *qepA* Dr. K. Yamane tarafından sağlandı. *qnrB*, *qnrS* ve *aac(6')1b* için çalışmanın yapıldığı laboratuvarın dizi analizi ile doğrulanmış klinik izolatları kullanıldı.

PCR analizi sonucunda 482 baz çifti (bç) büyüklüğündeki ürünün *aac(6')1b-cr* varyantı olup olmadığının belirlenmesi amacıyla *BseGI* (Fermentas, ABD) restriksiyon enzimi kullanılarak restriksiyon analizi yapıldı. PCR çalışmaları ve restriksiyon işlemi sonucunda oluşan ürünler %1'lik agaroz jel elektroforezde yürütüldü ve belirteç (Fermentas, 1 kb ladder) ile karşılaştırılarak ultraviyole ışık altında incelendi. Pozitif kontrol suşlarda; QnrA (626 bç), QnrB (562 bç), QnrC (447 bç), QnrS (416 bç) ve QepA (199 bç) gen bölgelerinin varlığı gösterildi. *aac(6')-1b* gen bölgesi 482 bç büyüklüğünde olup restriksiyon işlemiyle 206 + 276 bç büyüklüğünde kesilirken, *aac(6')-1b-cr* varyantı restriksiyon sonrası kesilmedi.

Tablo I. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Kullanılan Hedef Genler ve Primer Dizileri

Hedef gen	Primer	Dizi (5'-3')	Bant büyüklüğü
<i>qnrA</i>	QnrA-F	TCAGCAAGAGGATTCTCA	626 bç
	QnrA-R	GGCAGCACTATTACTCCCA	
<i>qnrB</i>	QnrB-F	ATGACGCCATTACTGTATAA	562 bç
	QnrB-R	GATCGCAATGTGTGAAGTTT	
<i>qnrC</i>	QnrC-F	GGGTTGTACATTATTGAATC	447 bç
	QnrC-R	TCCACTTTACGAGGTTCT	
<i>qnrS</i>	QnrS-F	ACGACATTTCGCAACTGCAA	416 bç
	QnrS-R	TAAATTGGCACCTGTAGGC	
<i>qepA</i>	QepA-F	GCAGGTCCAGCAGCGGGTAG	199 bç
	QepA-R	CTTCCTGCCCGAGTATCGTG	
<i>aac(6')-1b</i>	Aac(6')-1b-F	TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA	482 bç
	Aac(6')-1b-R	CTCGAATGCCTGGCGTGT	

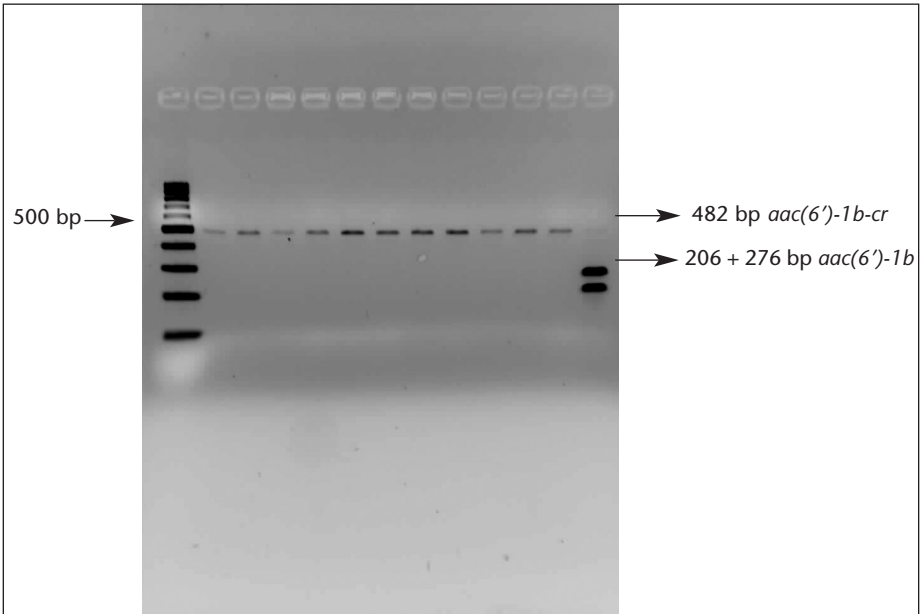
BULGULAR

Çalışmaya alınan 112 *E.coli* suşunun 53 (%47.3)'ü erkek, 69 (%52.7)'u kadın hastalardan izole edilmiş olup, suşların çoğu üroloji kliniğinde yatan hastalara aittir. Suşların %75'i idrar, %14.3'ü kan, %8.9'u yara yeri ve %1.8'i bronkoalveoler lavaj örneklerinden izole edilmiştir. İncelenen suşların 78 (%69.6)'i GSBL pozitif, 34 (%30.4)'ü GSBL negatif olarak tespit edilmiştir.

Konvensiyonel PCR ile izolatların hiçbirinde *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrS* ve *qepA* geni saptanmazken, 67 izolatta *aac(6')-1b* geni saptanmış, restriksiyon sonrasında bu genin tamamının *aac(6')-1b-cr* varyantı olduğu gösterilmiştir (Resim 1). Moleküler çalışmalarla, *aac(6')-1b-cr* geninin gösterildiği suşların 58 (%86.6)'inde GSBL pozitifliği olduğu belirlenmiştir.

TARTIŞMA

Antibiyotiklerin yoğun kullanımı sonucu, günümüzde çoklu direnç gösteren bakteri enfeksiyonları büyük bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Bölgemizde 2001 yılında yapılan bir çalışmada¹¹ *E.coli* suşlarında siprofloksasin duyarlılığı %73.3 iken, 2004 yılında izole edilen 434 *E.coli* suşunda kinolon direnci %30.4; 2005 yılında izole edilen 468 *E.coli* suşunda ise direncin %63.2'ye çıktığı gözlenmiştir¹². Bu noktadan hareketle, hastanemizde izole edilen ve laboratuvar arşivimizde saklanmış olan *E.coli* suşları retrospektif olarak taranmış ve kinolon direncine sahip olanlar seçilerek, kinolon direncinin nedenlerinden biri olan plazmid aracılı direnç mekanizmalarının olası varlığı araştırılmıştır.



Resim 1. *aac(6')-1b-cr* gen varlığını gösteren agaroz jel görüntüsü.

Türkiye’de plazmid aracılı kinolon direnci geni, ilk kez İstanbul’da ve 2005 yılında Nazik ve arkadaşları¹³ tarafından bildirilmiştir. Bu çalışmada GSBL pozitif 49 suşta *qnr* geni varlığı araştırılmış, bir *Enterobacter cloacae* ve bir *Citrobacter freundii* suşunda *qnrA* geni gösterilmiştir. Daha sonra Türkiye’nin farklı bölgelerinden plazmidle kodlanan çeşitli [*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *aac(6)-Ib-cr*] kinolon direnç genleri bildirilmiştir¹⁴⁻²⁰. Buna rağmen ülkemizde halen plazmid aracılı kinolon direnciyle ilgili sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır. Nazik ve arkadaşlarının¹⁴ 2008 yılında yaptıkları diğer bir çalışmada, yoğun bakım hastalarından izole edilen toplam 460 *Enterobacteriaceae* ve nonfermenter gram-negatif basilleri kapsayan suşlarda *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* genleri araştırılmış, 3 (%0.65) *E. cloacae* suşunda iki *qnrS1* ve bir *qnrB1* geni saptanmıştır. Öktem ve arkadaşları¹⁶ 2008 yılında İstanbul, Ankara, Antalya ve İzmir’de izole edilen *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarından oluşan toplam 78 suşu incelemiş, dört *K. pneumoniae* ve bir *E. coli* suşunda *qnrA* geni saptamıştır. Aynı yıl İzmir’de yapılan başka bir çalışmada, kan kültürlerinden izole edilen 356 *Enterobacteriaceae* üyesinde *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* genlerinin varlığı araştırılmış ve kinolona dirençli altı suşta *qnrA*, üç suşta *qnrS* geni saptanmıştır¹⁷. Öngen ve arkadaşlarının¹⁸ İstanbul’da yaptıkları çalışmada, %61’i siprofloksasine dirençli olan 61 *Campylobacter* suşunda *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* genlerine rastlanmamıştır. Avşaroğlu ve arkadaşları²⁰, yiyeceklerden izole edilen *Salmonella enterica* serovar Virchow suşlarıyla yaptıkları bir çalışmada, nalidiksik aside dirençli, siprofloksasine azalmış duyarlılık gösteren ve *gyrA* geninde mutasyon saptanan dokuz suşun üçünde *qnrS1* geni saptamışlardır. Su örneklerinden izole edilen 183 koliform bakteride antibiyotik direnç mekanizmalarını araştırarak Özgümüş ve arkadaşları²¹ da, bir *E. coli* ve bir *K. pneumoniae* suşunun transkonjugatlarının nalidiksik aside yüksek düzeyde dirençli olduğunu bulmuşlar ve bu suşlarda *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* genlerinin varlığını araştırmışlardır. Sonuçta her iki suşta *qnrS* geninin varlığı belirlenmiş ve nehirler gibi çevresel kaynakların çoğul dirençli *Enterobacteriaceae* üyeleri için bir rezervuar rolü oynayabileceği vurgulanmıştır²¹.

Poirel ve arkadaşları¹⁹ Türkiye’deki farklı hastanelerden izole edilen ve GSBL oluşturan toplam 248 *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşuyla yaptıkları çalışmada, bir *K. pneumoniae* suşunda farklı plazmidler üzerinde *qnrB1* ve *aac(6’)-Ib-cr* genlerini saptamışlar; ayrıca GSBL oluşturan 50 izolatın %78’inde *aac(6’)-Ib-cr* geninin bulunduğunu göstermişlerdir. Kore’de yapılan bir çalışmada, kinolona dirençli ve GSBL üreten 368 *Enterobacteriaceae* izolatının %38’inde multipleks PCR ile *qnrA* (n= 4), *qnrS* (n= 2) ve *qnrB* (n= 135) geni varlığı saptanmıştır²². Budapeşte’den yapılan çalışmada ise GSBL üreten 101 *K. pneumoniae* izolatının %8’inde, 70 *E. coli* izolatının ise %1.4’ünde *qnr* determinantlarının saptandığı ve *qnrA* geninin baskın olduğu bildirilmiştir²³. Bu araştırmacılar, GSBL üreten suşların %26.6’sında *aac(6’)-Ib* geni bulunduğunu ve bunların %8’inin *aac(6’)-Ib-cr* varyantı olduğunu; ancak *qnr* pozitif suşlarda *aac(6’)-Ib-cr* genine rastlanmadığını ifade etmişlerdir²³. Fransa’da GSBL üreten 121 klinik izolatla yapılan çalışmada, *qepA* geni sadece bir *E. coli* suşunda saptanmış ve Avrupa izolatlarında ilk *qepA* determinantının bu çalışmayla bildirildiği vurgulanmıştır²⁴. Ülkemizde yapılan araştırmaların çoğunda oldukça düşük oranlarda saptanan *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* genleri ve henüz ülkemizde yeni araştırılmaya başlanan *qnrC* geni çalışmamızda saptanmamıştır. Buna rağmen Poirel ve arkadaşlarının¹⁹

çalışmalarında saptadıkları %78 oranına benzer şekilde, GSBL üreten suşlarda *aac(6')-Ib* geninin mutasyonel bir varyantı olan *aac(6')-Ib-cr* geninin oranı %86.6 olarak tespit edilmiştir. Türkiye'de ya da ülkemiz kaynaklı izolatlarla yapılan çalışmalarda, kinolona dirençli *Enterobacteriaceae* suşlarında *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* ve yeni saptanan *qnrC* tiplerinin az sayıda saptandığı görülmektedir. *qnrA* ve *qnrB* saptanan izolatların büyük çoğunluğunun *Klebsiella* spp. olduğu, *E.coli* izolatlarının sınırlı sayıda görüldüğü rapor edilmektedir. Dolayısıyla klinik örneklerden en sık izole edilen *E.coli* suşlarında plazmid kökenli direnç açısından *qnr* dışı direnç parametrelerinin de birlikte değerlendirilmesi yerinde olacaktır.

Sonuç olarak, çalışmamızda *qnr* grubu direnç plazmidlerinin bulunamamış olmasına karşın, *aac(6')-Ib-cr* geninin yüksek oranda (%59.8) saptanması, yukarıda belirtilen durumu desteklemektedir. Özellikle GSBL üreten suşlarda bu oranın %86.6'ya ulaştığı görülmektedir. Bu durum, çoklu direncin de bir göstergesi sayılabilir. Bu suşlarda klonalite çalışması yapılması ve köken araştırılması, özellikle kinolon direncinin yüksek olduğu kliniklerde alınacak önlemler için yol gösterecektir. Ayrıca, bölgemizde hayvancılığın yaygın olması plazmid kökenli direncin yayılımında kolaylaştırıcı etken olabilir. Dirençli suşların kaynağının araştırılmasında, hayvansal kaynaklı örneklerin yanı sıra çevre kaynaklı örneklerin incelenmesinin de faydalı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Nazik H, Öngen B. Türkiye'de plazmid aracılı kinolon direnci. ANKEM 2010; 24(1): 46-54.
2. Hooper DC, Strahilevitz J. Quinolones, pp: 487-510. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 2010, 7th ed. Elsevier Churchill Livingstone, Philadelphia.
3. Topçu AW, Koç MM. Kinolonlar, s: 341-54. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (ed), Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 2008, 3. baskı. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul.
4. Nordmann P, Poirel L. Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in *Enterobacteriaceae*. J Antimicrob Chemother 2005; 56(3): 463-9.
5. Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. Lancet 1998; 351(9105): 797-9.
6. Rodriguez-Martinez JM, Cano ME, Velasco C, Martinez-Martinez L, Pascual A. Plasmid-mediated quinolone resistance: an update. J Infect Chemother 2011; 17(2): 149-82.
7. Yamane K, Wachino J, Suzuki S, et al. New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, QepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51(9): 3354-60.
8. Robicsek A, Strahilevitz J, Jacoby GA, et al. Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. Nat Med 2006; 12(1): 83-8.
9. Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The world-wide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. Lancet Infect Dis 2006; 6(10): 629-40.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Eighteenth Informational Supplement. CLSI Document M100-S18, 2008, Wayne, PA.
11. Aktepe OC, Altındış M. *E.coli* suşlarında kinolon direnci. X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 15-19 Eylül 2001, Adana. Program ve Özet Kitabı, P.10/25.
12. Aktepe OC, Tunç N, Çiftçi İH, Çetinkaya Z, Altındış M. *E.coli* suşlarında kinolon direnci: iki yıllık izlem. 7. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, 13-15 Nisan 2006, İstanbul. Program ve Özet Kitabı, P49.
13. Nazik H, Poirel L, Nordmann P. Further identification of plasmid-mediated quinolone resistance determinant in *Enterobacteriaceae* in Turkey. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49(5): 2146-7.

14. Nazik H, Öngen B, Kuvat N. Investigation of plasmid-mediated quinolone resistance among isolates obtained in a Turkish intensive care unit. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61(4): 310-2.
15. Nazik H, İlkaç M, Öngen B. Prevalence of *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* and *aac(6')-Ib-cr* (in *qnr*-positive isoalates) among the ESBL-positive and/or ciprofloxacin-resistant isolates in Turkey. *J Chemother* 2009; 21(2): 219-21.
16. Oktem IM, Gulay Z, Bicmen M, Gur D, HITIT Project Study Group. *qnrA* prevalence in extended-spectrum beta-lactamase-positive *Enterobacteriaceae* isolates from Turkey. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61(1): 13-7.
17. Öktem İMA, Biçmen M, Gülay Z. Kan kültürlerinden soyutlanan *Enterobacteriaceae* izolatlarında plazmid ile ilişkili kinolon direnci genlerinin saptanması. 8. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, 2-4 Nisan 2008, İstanbul. Program ve Özet Kitabı, P28.
18. Öngen B, Nazik H. Investigation of plasmid-mediated quinolone resistance among *Campylobacter* strains. *Farmacie Terapia* 2008; 25(3-4): 37-9.
19. Poirel L, Gür D, Minarini L, Arslan U, Nordmann P. Molecular epidemiology of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in extended spectrum beta-lactamase producing *E.coli* and *K.pneumoniae* isolates from Turkey. 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 19-22 April 2008, Barcelona. Abstract Book, P1527.
20. Avsaroglu MD, Helmuth R, Junker E, et al. Plasmid-mediated quinolone resistance conferred by *qnrS1* in *Salmonella enterica* serovar Virchow isolated from Turkish food of avian origin. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60(5): 1146-50.
21. Özgümüş OB, Sandallı C, Sevim A, Çelik-Sevim E, Sivri N. Class 1 and class 2 integrons and plasmid-mediated antibiotic resistance in coliforms isolated from ten rivers in Northern Turkey. *J Microbiol* 2009; 47(1): 19-27.
22. Tamang MD, Seol SY, Oh JY, et al. Plasmid-mediated quinolone resistance determinants *qnrA*, *qnrB* and *qnrS* among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in a Korean hospital. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52(11): 4159-62.
23. Szabo D, Kocsis B, Rokusz L, et al. First detection of plasmid-mediated quinolone resistance determinants *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* and *aac(6')-Ib-cr* in extended-spectrum β -lactamase (ESBL) producing *Enterobacteriaceae* in Budapest, Hungary. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62(3): 630-2.
24. Cattoir V, Poriol L, Nordmann P. Plasmid-mediated quinolone resistance pump QepA in an *Escherichia coli* isolate from France. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52(10): 3801-4.